THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE REIMS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DOCTORAT D'ÉTAT)

PAR

Françoise ROQUET

1ère THÈSE — Étude pharmacologique et toxicologique d'une substance à propriétés antitussives

2ème THÈSE — Propositions données par la Faculté

Soutenues publiquement le 7 Mars 1969 devant la Commission d'Examen

---

JURY : MM. LE MEN Président
AUROUSSEAU Examinateurs
LEVY «
QUIRIN «

U N I V E R S I T E de R E I M S

FACULTE MIXTE de MEDECINE et de PHARMACIE de REIMS

ANNEE 1969 Nº 1

T H E S E

D O C T O R A T en P H A R M A C I E

(Diplôme d'Etat)

par

ROQUET françoise, née le 11.3.1936

Présentée et soutenue publiquement le 7 mars 1969

"ETUDE PHARMACOLOGIQUE et TOXICOLOGIQUE d'une SUBSTANCE à PROPRIETES ANTI-TUSSIVES"

Président: Monsieur le Professeur LE MEN

Membres du jury: Mr le Professeur AUROUSSEAU
Mr le Professeur LEVY
Mr le Professeur QUIRIN

FACULTE MIXTE de MEDECINE et de PHARMACIE de REIMS

Directeur honoraire de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims ..... M.R. FRANQUET
Professeurs honoraires: ..... MM. J. BILLARD,
M. LEULIER,
R. LEFEVRE.

DOYEN: M. L. VILDE
ASSESSEUR: M.J. LE MEN

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	M. AUROUSSEAU	Pharmacodynamie
	J. BASTIEN	Clinique chirurgicale
	J. BOREL	Biochimie médicale
	G. DROPSY	Bactériologie-Parasitologie
	J.M. DUBOIS de MONTREYNAUD	Pathologie expérimentale
	M. FANDRE	Pédiatrie
	A. JACQUINET	Clinique médicale
	J. LE MEN	Pharmacie chimique
	J. LEVY	" galénique
	M. MEYNARD	Pathologie chirurgicale
	P. QUEREUX	Anatomie
	M. QUIRIN	Matière médicale
	J. VALEYRE	Biophysique médicale
	L. VILDE	Pathologie médicale

PROFESSEURS à TITRE PERSONNEL

M.R. NATAF ..... Ophtalmologie

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	J. GARDENT	Chimie organique
	G. PETITMAIRE	Hygiène, Médecine préventive Médecine du travail
	J. RISTELHUEBER	Thérapeutique

PROFESSEURS CHARGES de COURS à TITRE PERMANENT

MM.	M. JACQUET	Anatomie pathologique
	R. LARDENNOIS	Pathologie chirurgicale

... / ...

MAITRES de CONFERENCES AGREGES

MM.	G. BOFFA	Biochimie médicale
	J. BOY	Hématologie
	T. CAULET	Anatomie pathologique
	H. CHOISY	Pharmacologie
	R. DOURIS	Physique pharmaceutique
	J. DUCHENNE	Microbiologie
	P. GAUGE	Physiologie
	H. GEOFFROY	Thérapeutique
	Y. GERARD	Chirurgie générale
	J. GOUGEON	Médecine générale
	G. LEDOUBLE	Chimie minérale
	M. LEUTENEGGER	Médecine générale
	J. MORICE	Neuro-psychiatrie
	G. PASCALIS	" "
	J. RENDOING	Anesthésiologie
	J. RIVES	Chirurgie générale
	M. SEGAL	Electroradiologie
	D. ZAGURY	Histologie- Embryologie

Secrétaire de la Faculté: ..... Mr R. DOHAIN

Bibliothécaire: ..... Mme J. PITHOIS

A Monsieur le Professeur Jean LE MEN

assesseur de Monsieur le Doyen de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Reims

Professeur de Pharmacie Chimique,

qui a bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse, et qui m'a guidée dans l'élaboration de la seconde thèse.

A Monsieur le Professeur Michel AUROUSSEAU

qui a dirigé ce travail avec bienveillance et dont les conseils prodigués tout au long de son élaboration ont permis de le mener à bien.

En témoignage de très vive gratitude et de respectueux attachement.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542719_0005

A Monsieur le Professeur QUIRIN

A Monsieur le Professeur LEVY

qui ont accepté de juger ce travail

En témoignage de respectueuse gratitude.

Je remercie la Direction Scientifique du Laboratoire ROGER BELLON qui a mis à ma disposition les produits et l'équipement matériel indispensables à la bonne exécution de ces recherches.

Je remercie tout particulièrement Monsieur CHARRA qui s'est intéressé personnellement à ce travail et en a facilité la réalisation, et Monsieur PESSON qui a conçu et réalisé la synthèse des molécules organiques étudiées.

A mes parents,

en témoignage de ma profonde affection.

Meis

et

Amicis

P L A N

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I - DESCRIPTION et DEFINITION d'un ACCES de TOUX

II - RAPPEL PHYSIOLOGIQUE de la TOUX

1) - Zones réflexogènes sensibles

a) - terminaisons du trajet respiratoire
b) - " extrapulmonaires

2) - Voies centripètes

3) - " centrifuges

4) - centre de la toux

III - PHARMACOLOGIE des ANTITUSSIFS et THERAPEUTIQUE de la TOUX

A - Définition d'un antitussif

B - Intérêt de l'utilisation des substances antitussives

C - Lieu d'action des substances antitussives

1) - sur les trajets afférents

2) - " " " efférents

3) - sur les mécanismes coordinateurs généraux

4) - " " " " de l'inspiration initiale

5) - " " " " de la résistance respiratoire

6) - sur les centres supérieurs

7) - autres propriétés des antitussifs.

... / ...

D - Techniques d'étude

1) - Espèce animale

2) - Animaux anesthesiés ou vigiles

3) - Stimulus utilisé

- excitations terminales

a) - stimulus mécanique

b) - " chimique

c) - " électrique

- excitations centrales

a) - atteinte par les nerfs afférents

b) - excitation directe du centre de la toux

4) - Méthode d'enregistrement

E - Classification chimique des antitussifs

1) - Alcaloïdes de l'opium

2) - Composés synthétiques à action morphinique

3) - " " " " non "

a) - action centrale

b) - " périphérique

4) - Conclusion: rapport structure-activité.

.../ ...

TRAVAUX PERSONNELS

I - PRESENTATION de la STRUCTURE CHIMIQUE de la SERIE ETUDIEE

II - SYNTHESE CHIMIQUE

III - RECHERCHE de l'ACTIVITE ANTITUSSIVE des MOLECULES de la SERIE

IV - ETUDE PHARMACOLOGIQUE du 699:

A - Toxicité aigue

B - Activité antitussive

Animal anesthésié

1) - Technique de Domenjoz modifiée

2) - Excitation de la trachée du Cobaye

Animal vigile ou décérébré

1) - Technique de Tedeschi

2) - Cobaye décérébré

C - Etude des propriétés pouvant interférer avec l'activité antitussive

1) - Anesthésie locale

2) - Action sur la fibre lisse

3) - " dépressive centrale

D - Etude des effets secondaires

1) - Action dépressive respiratoire

2) - " analgésique

3) - " contracturante de la fibre lisse

- tonus bronchique

- action constipante

... / ...

E - Effets latéraux: pharmacologie générale

1) - S.N.A.

2) - Système cardio-vasculaire

3) - Antiinflammatoire

F - Conclusion: mécanisme d'action

G - Etude toxicologique

1) - Toxicité subaigue chez le Rat

2) - " liée au "CN"

- action vis-à-vis de la cytochrome-oxydase

- " " " " phosphorylation oxydative

CONCLUSION GENERALE

... / ...

I N T R O D U C T I O N

Longtemps la toux a été considérée comme une affection secondaire, sans importance, à laquelle on remèdiait par une thérapeutique plus ou moins appropriée et où les dérivés opiacés avaient la première place. Depuis, 15 ans environ, de nombreux chercheurs se sont penchés de façon plus précise sur la physiologie et la pathologie de la toux. La connaissance accrue de ce phénomène a permis de proposer des traitements plus rationnels.

Proposé par GOLD en 1952 (43), "le terme d'antitussif doit être attribué spécifiquement à toute drogue capable soit de dominuer la sensibilité du centre de la toux dans le système nerveux central, soit d'agir à la périphérie en réduisant les impulsions allant au centre ou à une substance possèdant les deux activités".

Dans ce travail, nous rappellerons les connaissances actuelles de la physio-pathologie de la toux, nous passerons en revue les techniques d'étude et les principales structures chimiques des antitussifs connus à ce jour. Nos travaux personnels ont comporté la synthèse d'une série de molécules chimiques à potentialité antitussive, puis l'étude pharmacologique approfondie du dérivé le plus actif, réalisée en vue,d'une part, d'en élucider le mécanisme d'action et d'en faire ressortir, d'autre part, les avantages que cette molécule pourrait présenter en thérapeutique sur les dérivés morphiniques. On sait, en effet, que malgré leurs propriétés antitussives presque jamais égalées, leur utilisation est limitée par leurs actions secondaires indésirables. La principale d'entre elles est celle de provoquer des phénomènes d'accoutumance et de toxicomanie étroitement liée à leurs propriétés dépressives centrales marquées. Dans ce but, la molécule étudiée a été comparée plus spécialement à la codéïne.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I - DEFINITION et DESCRIPTION d'un ACCES de TOUX

La toux peut se définir comme une expiration brutale pendant laquelle l'air est expulsé avec une grande vitesse à travers une glotte rétrécie.

S'il est difficile de connaître exactement le rôle joué par les modifications de la résistance élastique des poumons et du thorax, il est évident que la musculature expiratoire prend une part active dans l'augmentation de la vitesse de l'air expiré à tel point que la toux peut être considérée comme une expiration forcée.

Cet effet expiratoire est généralement précédé d'une respiration profonde. KROPFLI (79) a même trouvé un parallèlisme entre la profondeur de l'inspiration et la force de l'expiration suivante. Il y aurait une relation de cause à effet entre les deux phénomènes, car l'augmentation du volume thoracique permet un plus grand effort respiratoire. Et l'on peut même dire que l'inspiration qui précède immédiatement l'expiration forcée fait partie intégrante de l'acte de la toux.

Inversement, on peut concevoir qu'une forte expiration appelle une inspiration profonde. Le phénomène se répétant, on explique ainsi pourquoi la toux se manifeste rarement isolèment, mais prend l'aspect d'accès répétés.

En outre, la poussée expiratoire est renforcée par le comportement de la glotte au moment de la toux qui, fermée pendant un bref laps de temps, s'ouvre rapidement. Elle joue un rôle de synchronisateur entre les phénomènes inspiratoire et expiratoire, provoque un rétrécissement

... /...

de l'axe trachéo-bronchique et une augmentation de la résistance du tractus respiratoire à l'expiration. Cependant, son rôle n'est pas indispensable: chez l'animal anesthésié respirant à travers une canule trachéale, les accès de toux sont comparables à ceux observés chez l'animal dont la glotte est intacte. Ainsi fermeture et ouverture de la glotte doivent être consisédérées comme un mécanisme auxiliaire, utile mais facultatif.

En conclusion, la toux peut être caractérisée par:

- une augmentation de la vitesse de l'air expiré,
- l'active participation de la musculature expiratoire,
- la présence d'une inspiration initiale renforcée,
- la fermeture et l'ouverture de la glotte BÜCHER (16).

Il faudrait y ajouter selon RIENZO (111), le rôle actif du péristaltisme bronchique, bien qu'il soit controversé par certains (ROSS - 112).

II - RAPPEL PHYSIOLOGIQUE de la TOUX

L'étude pharmacodynamique de substances antitussives nécessite en premier lieu la connaissance précise du phénomène physiologique constitué par la toux elle-même.

La toux est un acte réflexe qui comprend comme tout réflexe:

- des zones réflexogènes, tussigènes,
- des voies centripètes,
- des voies centrifuges,
- un centre coordinateur des influx, afférents et efferents.

... / ...

1 - Zones réflexogènes, sensibles -

Le point de départ du réflex de la toux est constitué par l'irritation de terminaisons nerveuses situées dans la muqueuse du tractus respiratoire et dans les aires sensibles extra-pulmonaires.

a) - Terminaisons sensibles du trajet respiratoire

Les zones réflexogènes se situent dans la muqueuse du tractus respiratoire; leur localisation a été précisée par des excitations contrôlées. D'après ces expériences, on a pu constater que les terminaisons sensibles ne sont pas disposées de façon homogène dans la muqueuse respiratoire et qu'il existe des zones de susceptibilité différente en r apport avec le nombre d'éléments récepteurs qui s'y trouvent. Les zones les plus sensibles se situent dans la trachée et les grosses bronches, les récepteurs étant plus nombreux au niveau des bifurcations.

Les excitations provoquant la toux peuvent être d'ordre mécanique, chimique, thermique ou électrique . D'après BÜCHER (16), il n'y aurait pas de récepteurs spécifiques de la toux, celle-ci n'étant déclanchée qu'à partir d'un certain seuil d'excitation.

Cependant, WIDDICOMBE (151) a pu mettre en évidence trois sortes de récepteurs trachéobronchiques selon leur vitesse "d'adaptation".

Il distingue:

- les récepteurs "lents", sensibles aux variations de volume;
- " " "rapides" sensibles aux variations de pression et à la distension des voies respiratoires, mais responsables aussi du déclanchement du réfexe par des stimuli mécaniques et électriques. Ils peuvent être stimulés de façon caractéristique par la poudre de talc;

... / ...

- les récepteurs "intermédiaires" sensibles aux stimuli chimiques irritants. Ils sont stimulés électivement par l'anhydride sulfureux, inactif sur les récepteurs rapides.

La toux chimique est dûe, dans la majorité des cas, à une stimulation mécanique des terminaisons sensibles.

b) - Terminaisons sensibles extrapulmonaires

Outre les zones tussigènes du tractus respiratoire, les plus nombreuses et les plus importantes, il existe de nombreux récepteurs dont l'excitation provoque la toux. Ils sont disséminés dans le tube digestif et certains organes comme le coeur, la rate, le foie, les vaisseaux etc... C'est ainsi que des stimulations tactiles du conduit auditif externe, des pressions sur le foie, la rate, la compression du sinus carotidien, des altérations cardio-vasculaires peuvent être à l'origine d'accès de toux.

2 - Voies centripètes -

Les voies centripètes sont constituées par:

- le trijumeau,
- le glossopharyngien,
- le pneumogastrique, et ses rameaux bronchiques, trachéaux, pleuraux et le laryngé supérieur.

La "physionomie" des accès de toux est différente selon la voie centripète intéressée; le trijumeau est généralement à l'origine d'une toux violente et de longue durée, le glosso-pharyngien provoque une toux violente et souvent accompagnée de nausées et de vomissements, alors que le pneumogastrique et ses nombreuses branches provoque une toux souvent brève et saccadée.

... / ...

3 - Voies motrices centrifuges -

Les voies centrifuges sont constituées de tous les nerfs intéressant les muscles respiratoires, dont il faut citer en particulier le nerf phrénique qui commande le diaphragme et le récurrent qui est à l'origine de la fermeture de la glotte.

4 - Centre de la toux -

L'étude anatomo-physiologique de tout réflexe comporte la localisation et le fonctionnement de son centre, celui-ci étant constitué d'un agrégat de cellules dont la fonction est de produire une réponse spécifique à partir d'excitations différentes.

Beaucoup de recherches ont été entreprises pour localiser au niveau du système nerveux central les points de départ des réponses tussigènes.

C'est ainsi que BORISON (12) et CHAKRAVARTY (23) ont pu démontrer que l'excitation de la partie dorso-latérale du bulbe provoque, chez le Chat, des expirations assimilables à des accès de toux. DUBI (33) a pu obtenir une réponse tussigène après section transversale du cerveau, tout en laissant une activité respiratoire normale.

Depuis les progrès récents faits en neurophysiologie, l'idée de neurones groupés en un centre spécifique est périmée car aucun centre ne possède l'exclusivité d'une seule fonction.

A la notion de "centre de la toux", il faut désormais substituer l'idée d'un ensemble de foyers liés entre eux par de nombreux trajets nerveux, en relation avec différentes parties du système nerveux central et englobant les mécanismes coordinateurs de la respiration.

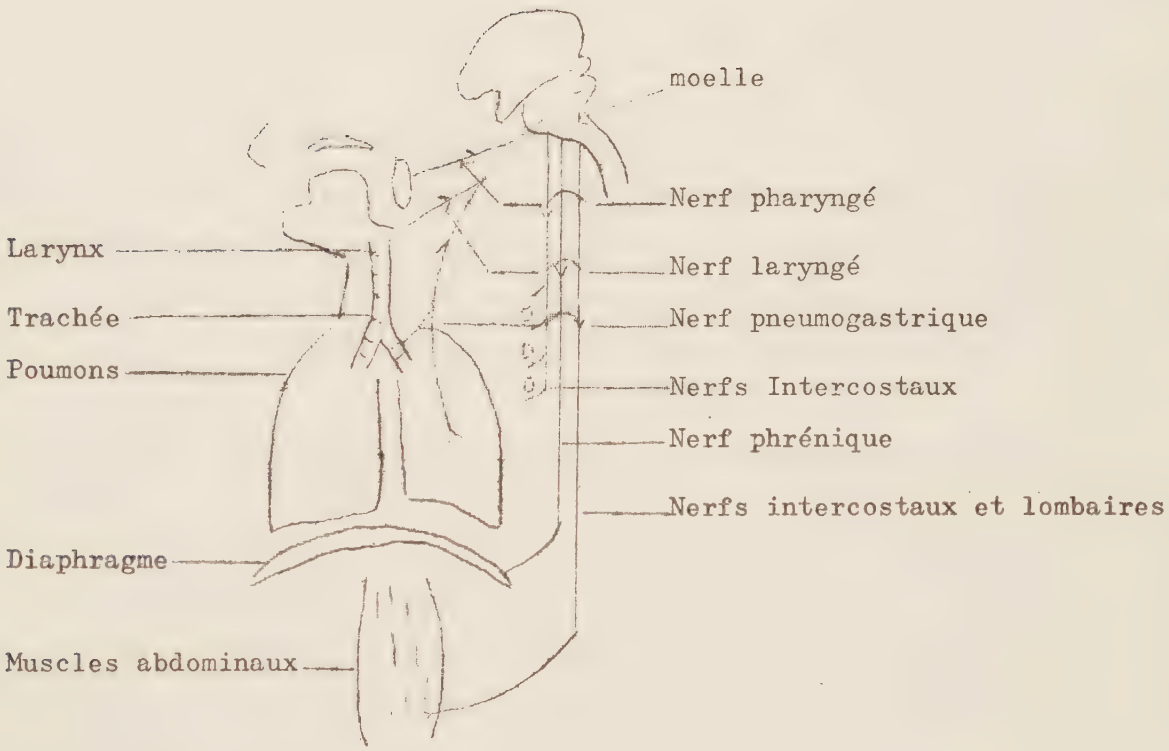
Ceci s'appuie sur le fait que tous les mécanismes centraux de la toux pris individuellement ne sont pas spécifiques et font partie de la physiologie respiratoire (BÜCHER (16)).

... / ...

Signification physiologique de la toux -

La vitesse de l'air expiré au moment d'un accès de toux est particulièrement forte dans la trachée et les parties supérieures des bronches dont la section totale est faible: aussi les substances étrangères irritantes peuvent être expulsées mécaniquement. Dans ce cas, l'expiration est efficace et le réflexe tussigène peut être considéré comme un réflexe de protection. Il n'en est pas de même de la toux qui prend son origine dans différentes parties de l'organisme et dont la signification n'est nettement pas éclaircie, mais qui peut être considérée comme un trouble de la régulation respiratoire.

SCHEMA de l'ARC REFLEXE de la TOUX



III - PHARMACOLOGIE des ANTITUSSIFS et THERAPEUTIQUE de la TOUX

Après avoir repris la définition d'un antitussif, nous examinerons, du point de vue pharmacologique, le lieu d'action d'une telle substance puis les techniques utilisées pour son étude; du point de vue thérapeutique, nous verrons l'intérêt que présente l'utilisation d'un tel médicament et passerons en revue les principaux antitussifs utilisés, classés selon leur lieu d'action et leur structure chimique. Ce dernier point nous permettra de mettre en évidence les relations de structure-activité présidant à l'élaboration de molécules nouvelles.

A - Définition d'un antitussif

"Un antitussif est une substance spécifiquement capable, soit de diminuer la sensibilité du centre de la toux dans le système nerveux central, soit d'agir à la périphérie en réduisant les impulsions allant au centre ou enfin, d'agir selon les deux modalités". (GOLD (43)).

B - Intérêt de l'utilisation de substances antitussives

La toux étant un réflexe physiologique de protection, dont le but est de libérer le tractus respiratoire des particules étrangères qui peuvent s'y accumuler, on peut se demander dans quelle mesure il est souhaitable de la supprimer et quel est l'intérêt de l'administration d'antitussifs.

A ce point de vue, on peut distinguer deux sortes de toux:
la toux productive et la toux improductive.

La première, causée par la présence d'un agent irritant sur la muqueuse respiratoire, aboutit au rejet d'une expectoration et doit être considérée comme avantageuse. Elle ne devra être qu'atténuée afin de transformer des accès répétés et épuisants en quelques accès espacés assez violents et efficaces.

... / ...

La seconde, qui est une toux d'irritation, est nuisible et incompatible avec une bonne santé. Elle peut, en particulier, provoquer des troubles du sommeil et des effets indésirables sur la circulation et la respiration. Ceux-ci sont une conséquence de l'augmentation de la pression intra-thoracique, provoquant une réduction de l'apport de sang au coeur droit (SHARPEY (129)).

L'irrigation du cerveau peut être diminuée (SHARPEY (128)) et être à l'origine de perte de conscience (KERR (71)).

Au niveau du système respiratoire lui-même, une forte augmentation de la pression intra-thoracique peut provoquer de l'emphysème, par suite de ruptures au sein du tissu pulmonaire.

C - Lieu d'action des substances antitussives

Théoriquement, un antitussif pourrait agir à n'importe quel niveau de l'arc réflexe tussigène: au niveau des trajets afférents et efférents, au niveau des mécanismes coordinateurs de la medulla oblongata, sur les mécanismes auxiliaires de l'inspiration initiale ou de la résistance expiratoire, enfin au niveau des centres nerveux supérieurs.

1) - Possibilité d'action sur les trajets afférents du réflexe

La paralysie des zones réflexogènes par des anesthésiques locaux ne doit être considérée que du point de vue théorique. En effet, celle-ci n'est pratiquement jamais réalisée en clinique, du fait de la difficulté que l'on a à localiser d'une part, et à atteindre mécaniquement, d'autre part, les zones réflexogènes elles-mêmes. Cette action peut aussi s'obtenir avec des substances ganglioplégiques.

... / ...

2) - Possibilité d'action sur les trajets effèrents

Les impulsions efférentes du réflexe tussigène suivent le trajet des nerfs allant aux muscles de la glotte, et des bronches et surtout aux muscles expiratoires.

Théoriquement, il semblerait possible d'atténuer la toux en supprimant la participation d'un des groupes musculaires précités et, en particulier, des muscles expiratoires, par l'utilisation de substances capables de provoquer une paralysie neuro-musculaire.

Ce procédé ne peut être réalisé en thérapeutique du fait des effets secondaires indésirables pouvant conduire à une paralysie générale. Un relaxant musculaire spécifique de la musculature expiratoire, sans effets secondaires, reste encore à découvrir.

3) - Possibilité d'action sur les mécanismes coordinateurs de la medulla oblongata

Une substance déprimant sélectivement les mécanismes coordinateurs de la medulla oblongata serait capable d'annuler la toux, quelle que soit son origine. Tel est le cas de la codéïne dont l'action antitussive spécifique a pu être dissociée d'une action centrale plus générale apparaissant à de fortes posologies.

4) - Possibilité d'action sur les mécanismes auxiliaires de l'inspiration initiale

On sait l'importance du phénomène inspiratoire initial pendant l'accès de toux. Ce réflexe a pour point de départ les stretch-récepteurs des poumons. Ainsi, l'anesthésie de ces récepteurs devrait réduire la toux dans la mesure où ils sont à son origine.

... / ...

Comme pour les autres zones sensibles, il est pratiquement impossible de les atteindre mécaniquement et de les localiser.

Cependant, certaines substances synthétiques telles que la benzononatine (butylamino benzoate de monométhyl monoéthylène glycol) semblent capables de provoquer une anesthésie sélective de ces éléments (BÜCHER (15)), (HERZOG (59)).

5) - Possibilité d'action sur les mécanismes auxiliaires de la résistance respiratoire

Il s'agirait de produits capables de prévenir la fermeture de la glotte ou le bronchospasme, phénomènes auxiliaires dont le rôle n'est pas négligeable. Aucune substance n'a pu, jusqu'à présent, retarder la fermeture de la glotte, mais il existe des produits capables de diminuer le bronchospasme, tels que les esters de l'acide phénylcyclopentane carboxylique (Caramiphène et pentoxyvérine). Cependant, ces substances ayant aussi un point d'impact central non négligeable, il est difficile de dire dans quelle mesure l'action bronchique participe à leur effet thérapeutique. D'autre part, il est difficile de savoir jusqu'à quel point la diminution du bronchospasme diminue les réflexes de la résistance expiratoire. D'autres explications sont possibles. En effet, dans la toux d'origine spasmogène, le bronchospasme a lieu aussi dans la phase inspiratoire. Dans ce cas, la spasmolyse provoque une diminution de la vitesse de l'air inspiré, qui a pour conséquence une diminution de l'intensité du stimulus local. Théoriquement et pratiquement, des substances spasmolytiques bronchiques seront efficaces dans certains cas de toux.

6) - Possibilité d'action sur les centres supérieurs

On sait le rôle des centres supérieurs dans la génèse de certaines toux. Dans ce cas, il est évident que les dépresseurs centraux pourront agir en tant qu'antitussifs.

.../...

Lors de la description des principaux antitussifs connus à ce jour, nous verrons qu'ils peuvent se classer en deux grands groupes: les uns par leur action périphérique au niveau des récepteurs sensibles de l'axe trachéobronchique, les autres, en particulier tous les dérivés morphiniques, par leurs actions dépressives centrales générales plus ou moins spécifiques au niveau des centres coordinateurs du réflexe tussigène.

7) - Propriétés pharmacologiques souvent associées à l'activité antitussive

Bien que l'on ait pu classer les différents antitussifs connus et utilisés à ce jour selon leur lieu d'action, central ou périphérique, le mécanisme intime de leur action est relativement peu connu. La codéïne elle-même reste à certains égards une énigme pour le pharmacologue. Ce mécanisme d'action peut être abordé, indirectement, par l'étude des propriétés pharmacologiques diverses souvent associées à l'action antitussive, en essayant d'établir une relation entre elles et analysant le rôle qu'elles jouent dans l'action principale.

Compte tenu des connaissances actuelles sur la patho-physiologie de la toux, quatre points semblent alors se dégager:

- l'effet dépresseur central,
- les effets respiratoires puisque le centre respiratoire et le centre de la toux sont intimement liés par des connexions nerveuses et quelquefois même assimilés l'un à l'autre;
- les effets spasmolytiques, la toux étant souvent compliquée de spasmes bronchiques,
- les effets anesthésiques locaux,
- l'action analgésique.

... / ...

- L'action dépressive centrale

L'activité antitussive de certaines molécules, comme par exemple celle des dérivés phénothiaziniques, n'est que la conséquence d'une dépression centrale au niveau des centres cérébraux qui inhibent les centres tussigènes.

Ces substances sont alors utilisées dans le cas de toux nerveuses qui ne sont que l'extériorisation de désordres psychiques.

Au contraire, quand on s'adresse à des molécules spécifiquement antitussives, ces propriétés sont absentes. Il semble donc qu'on puisse les dissocier les unes de l'autre. L'utilisation thérapeutique de ces dépresseurs aspécifiques est réservée aux toux dues à l'inflammation du tractus respiratoire, où la volonté est inefficace à sa suppression.

- La dépression respiratoire est particulièrement prononcée après l'administration de substances dérivées de la morphine ou de la méthadone.

Il serait tentant de penser que les mécanismes antitussifs de ces produits sont étroitement liés à leur action sur les neurones respiratoires. Cependant, HAAS (55) n'a pu montrer aucun parallèlisme entre l'inhibition de la toux et les effets dépresseurs sur la respiration.

On connaît même des antitussifs qui provoquent une stimulation respiratoire (SCHOERDER, W. (122)), (VLEESCHOUVER G.R.(150)).

Le problème n'est donc pas résolu.

... / ...

- Activité spasmolytique:

Nombreux sont les antitussifs spasmolytiques.

Cette activité, à elle seule, ne peut conduire à une inhibition de la toux, et la spasmolyse obtenue ne peut expliquer la suppression d'une toux expérimentale obtenue chez l'animal anesthésié. Cependant, surtout dans le cas de toux spasmodique, les propriétés spasmolytiques peuvent être considérées comme des adjuvants utiles de l'action antitussive.

- Activité anesthésique locale:

Peut-être, comme nous l'avons vu, la composante majeure du mécanisme d'action de substances telles que le benzonatate; pour d'autres produits, la présence d'une telle activité semble de peu d'intérêt.

- Action analgésique:

La relation entre l'action analgésique et l'action antitussive a donné lieu à de nombreuses discussions, ceci étant dû principalement au fait que les premiers antitussifs étaient des dérivés de la morphine. Depuis, de nombreux auteurs, en particulier FRIEBEL (39), ont montré que ces deux actions pharmacologiques sont indépendantes l'une de l'autre.

D - Techniques d'étude des substances antitussives

Récemment introduites en pharmacologie, les techniques d'étude des substances antitussives se sont multipliées au fur et à mesure de l'accroissement des connaissances physio-pathologiques de la toux. Cette multiplicité est une preuve d'insuffisance et il est indispensable de faire

... / ...

appel successivement à plusieurs techniques pour déterminer le lieu d'action des substances antitussives.

Ces techniques peuvent se ranger en plusieurs groupes, selon que l'on choisit comme critère de classification: l'espèce animale utilisée, l'état vigile ou non de l'animal, ou le stimulus appliqué. Elles ont toutes pour objectif de provoquer chez l'animal une réaction aussi voisine que possible de la toux observée chez l'Homme, puis ceci étant réalisé, d'observer les modifications ou la disparition de cette réaction après l'administration des substances à étudier.

Ces techniques ont fait l'objet de récentes mises au point: TIFFENEAU (145), BOISSIER (7), DOYLE (32), BÜCHER (17), et nous ne nous bornerons qu'à les rappeler brièvement en insistant sur celles que nous avons utilisées personnellement, et modifiées.

1) - Espèce animale

Si toutes les espèces animales auxquelles le pharmacologue fait couramment appel peuvent être utilisées dans la recherche d'une activité antitussive, aucune d'entre elles n'est vraiment appropriée, puisque la toux, dans son contexte physiologique, n'existe que chez l'Homme et chez quelques espèces difficilement accessibles en pharmacologie: le Cheval et la Vache.

Selon les auteurs, chaque espèce présente, cependant, certains avantages qui ont permis de les distinguer.

- Le Rat

Cette espèce est peu utilisé en raison de la difficulté que l'on a à dissocier les accès de toux et d'éternuements (REICHLE FRIEBEL (109), HENGEN. KASPAREK (58)).

Cependant, P. ZAMBONI et SIRO-BRIGIANI (158) décrivent une technique où la toux est obtenue par inhalation d'aérosol d'acide sulfurique; les éternuements qui peuvent s'associer aux accès tussigènes sont éli-

minés, en partie, par instillation dans les narines d'une solution phénolée à 3 %.

- Le Cobaye

Le Cobaye est d'un emploi courant; c'est l'animal de choix des techniques utilisant un stimulus chimique ou mécanique; son maniement facile et son prix peu élevé permettent la mise en jeu de nombreux animaux et l'interprétation statistique des résultats.

Cependant, ces avantages sont atténués par la variabilité des réponses individuelles.

Notre expérience personnelle nous a permis de constater, en outre, des différences de sensibilité saisonnière, les réponses tussigènes étant plus nettes et plus constantes pendant l'automne et l'hiver.

- Le Lapin

Bien que le Lapin soit l'animal le plus sensible pour l'étude des réflexes pulmonaires, (MAYER, MAGNE, PLANTEFOL (93), LARSELL-BURGET (82), BONISTER-FEGLER (11)), cette espèce comme le Rat éternue plutôt qu'elle ne tousse et présente, de plus, l'inconvénient de répondre de façon irrégulière à l'anesthésie.

Un seul auteur l'a préconisée récemment, en provoquant la toux par un aérosol de formol (SAVINI (119)).

- Le Chat

Le Chat est l'animal le plus utilisé dans la recherche systématique d'une activité antitussive.

Il répond de façon régulière et reproductible aux excitations électriques du nerf laryngé ou de la medulla oblongata. Il a été, de plus l'animal d'expérience de WIDDICOMBE (151) (152) qui a étudié, de façon

... / ...

approfondie les différents récepteurs du tractus pulmonaire et les réflexes respiratoires liés aux variations de volume pulmonaire.

- Le Chien

Très souvent cité, le Chien présente l'avantage de pouvoir être utilisé aussi bien anesthésié que vigile, ce qui est pratiquement impossible pour le Chat.

Les stimulations de tout ordre lui sont applicables: électriques, chimiques, mécaniques.

2) - Animaux anesthésiés ou vigiles

L'anesthésie générale des animaux est contreindiquée du fait que la plupart des dépresseurs centraux réduisent ou inhibent la toux en augmentant le seuil des réponses tussigènes. L'emploi d'un anesthésique peut donc masquer les propriétés antitussives d'un produit. De plus, un dépresseur central aspécifique, potentialisant l'action d'un anesthésique, pourra être assimilé à tort à un antitussif.

L'emploi d'animaux vigiles n'étant pas toujours aisé, de nombreuses techniques comportent une anesthésie transitoire ne durant que pendant le temps opératoire nécessaire à la préparation de l'animal, ou permanente.

Dans ce dernier cas, l'expérimentateur entretient une anesthésie superficielle, en utilisant de faibles doses d'anesthésiques de courte durée.

La décérébration supra-bulbaire permet d'éviter l'interférence des anesthésiques en supprimant le rôle du cortex. Cette technique se pratique chez le Chat: BORISON (12), MATALLANA (91), et chez le Cobaye: LE MEIGNAN (84).

... / ...

3) - Stimulus utilisé

La toux peut être le résultat d'excitations terminales ayant lieu au niveau des récepteurs ou d'excitation du centre même du réflexe, soit directement, soit par l'intermédiaire des nerfs afférents.

Dans le premier cas, elle pourrait être mécanique, chimique ou électrique; dans le second, elle sera uniquement électrique.

- Méthodes mettant en jeu des excitations terminales

a) - Stimuli mécaniques (tableau I)

Ce sont les méthodes les plus simples puisqu'elles ne nécessitent aucun appareillage spécial, le responsable de l'excitation allant de la sonde métallique ou caoutchoutée à la plume de poule en passant par des faisceaux de soie, ou de crins synthétiques ainsi que l'on peut le voir dans le tableau-ci-après. (tableau I)

Du point de vue historique, il faut mentionner qu'ERNST, en 1928, provoquait la toux par le simple pincement du larynx d'animaux présentant une pleurite chronique provoquée par une injection intra-pleurale d'une solution de Lugol. Cette méthode de réalisation difficile et sujette à des résultats variables avait l'avantage de reproduire une symptomatologie assez voisine de celle de la clinique.

Citons aussi la technique de TEDESCHI (144) que nous décrirons en détail prochainement, puisqu'elle a fait partie de notre ensemble de techniques et qui a l'avantage d'utiliser des chiens vigiles. La stimulation est provoquée ici par la vibration d'un ressort métallique fixé dans la trachée.

Le stimulus mécanique, quel qu'il soit, est à coup sûr efficace mais a l'inconvénient de ne pas être standardisé par des paramètres fixes; il est donc difficile de quantifier son intensité et de le reproduire avec exactitude.

... / ...

TABLEAU I

TECHNIQUES mettant en jeu un STIMULUS MECANIQUE

Animal	Etat de l'animal	Nature de l'objet provoquant le stimulus	Méthode d'enregistrement	Références
Chat	éveillé	pincement	observation	- ERNST 1938 (38)
Chien	"	soies de porc	pression intra-trachéale	- KASE 1952-1955 (65,66)
Chat	anesthésié		"	- MAY-VIDDICOMBE 1954 (92)
"	"		"	- KONZETT-ROTHLIN 1954 (76)
Chien	"	tube polyéthylène	"	- GREEN-WARD 1955 (49)
"	éveillé	ressort vibrant	observation	- TEDESCHI 1949 (144)

b) - Stimuli chimiques (tableau II)

Il est bien connu que l'inhalation de certaines substances chimiques est suivie d'accès de toux résultant de l'irritation des récepteurs sensibles du tractus trachéo-bronchique. WIDDICOMBE (151) (152) a pu même différencier ces récepteurs, comme des récepteurs sensibles aux excitations mécaniques, comme nous l'avons vu précédemment.

L'emploi des excitants chimiques est très répandu en pharmacologie. La liste des substances utilisées est longue, puisque tout produit présentant un caractère irritant pour les muqueuses peut être utilisé.

Parmi eux citons: les acides citrique, sulfurique, acétique, l'ammoniac, la poudre de savon, l'anhydride sulfureux, le formol, etc...

L'acide sulfurique semble être cependant le plus souvent préconisé. EICHLER-SMIATEK l'utilise chez le Cobaye, WINTER et FLATAKER chez le Chien, etc...

La substance choisie peut être introduite directement dans la trachée (KROEPLI, MAY, WIDDICOMBE), inhalée par l'intermédiaire d'un masque (EICHLER-SMIATEK) ou encore dispersée sous forme d'aérosol au sein d'une enceinte où est placé l'animal.

Comme on peut le voir dans le tableau suivant, toutes les espèces citées précédemment peuvent être employées. Le plus souvent, les animaux sont vigiles.

Par rapport aux excitations mécaniques, les excitations chimiques ont l'avantage d'être facilement dosables, donc reproductibles d'une expérience à une autre. Malheureusement, aucun produit n'est entièrement satisfaisant et la multiplicité tant dans leur nature que dans leur modalité d'emploi est la preuve de leur imperfection.

... / ...

TABLEAU II

TECHNIQUES utilisant un STIMULUS CHIMIQUE

Animal	Etat de l'animal	Nature du stimulus	Méthode d'enregistrement	Références
Cobaye	éveillé	- acide sulfurique 0,5 N		- EICHLER-SMIATEK 1940 (35)
Chat	anesthésié	- poudre de savon	- pression intra-trachéale	- KROEPELI 1950 (79)
Chien	éveillé	- SO_4H_2 0,5 N	- microphone	- WINTER-FLATAKER 1952 (45,153)
Cobaye	"	- NH_4OH	"	- " " 1954 (154)
Chien	"	- SO_4H_2 0,5 N	- observation	- DE VLEESCHOUVER 1954 (150)
Chat	anesthésié	- poudre de savon	- pression intra-trachéale	- PELLMONT-BÄCHTOLD 1954 (100)
Chien	éveillé	- NH_4OH	- " "	- WINDER-ROSIERE 1955 (155) - ROSIERE-WINDER 1956 (113)
Cobaye	"	- SO_2	- microphone	- REICHLE-FRIEBEL (109)
Chat-Cobaye	"	- SO_2	- pression intra-trachéale	- GREEN-WARD 1955 (49)
Chat	"	- poudre de savon	- " "	- BUCHER 1956 (15)
Cobaye	"	- acroléïne	- observation	- SILVESTRINI-MAFFII 1959 (132) - SILVESTRINI-POZZATTI 1960 (133)
Chien	"	- SO_4H_2N	- microphone	- CHEN 1960 (25)
Chat	anesthésié	- NH_4OH	- pression intra-trachéale	- STEFFO - al. 1961 (24)
Cobaye	éveillé	- acide citrique	- tambour	- CHARLIER 1961 (24)
"	"	- NH_4OH	- oscillomètre	- SALLE 1960 (118)
"	"	- "	- enregistrement de le pression de la chambre	- KAUSHAAR V.A.C., ROLAND W. (69)

La variabilité des réponses obtenues au cours des essais nécessite de nombreux animaux qu'il est quelquefois difficile de mettre en oeuvre.

c) - Stimuli électriques (tableau III)

Enfin, les terminaisons sensibles de l'axe trachéo-bronchique peuvent être excitées par des stimuli électriques. KASE (65) décrit un système d'électrodes en cuivre implantées dans la sous-muqueuse trachéale du Chien éveillé; SABURO-HARA (116) utilise des dispositifs analogues chez le Chat, le Chien et le Cobaye: implantation à demeure des électrodes dans la sous-muqueuse. On peut obtenir des animaux susceptibles d'être utilisés de nombreuses fois. La difficulté de cette technique est de maintenir les électrodes en place, celles-ci étant vite arrachées par l'animal. De plus, la sensibilité du réflexe diminue peu à peu au cours du temps, ceci étant notablement dû à la prolifération d'un tissu cicatriciel fibreux à l'endroit de l'implantation des électrodes.

Récemment CHERMAT et KORNOWSKI (26) ont proposé une technique d'étude d'antitussif basée sur la production de toux par excitation électrique de la trachée du Cobaye. L'excitation est appliquée par une électrode monopolaire en argent, placée sous la trachée; une électrode indifférente est placée sur la peau au moment où l'on procède à l'excitation.

- Méthodes mettant en jeu des excitations centrales

Celles-ci peuvent être divisées en deux groupes selon que l'on atteint le centre de la toux par l'intermédiaire des nerfs afférents ou par une excitation directe.

a) - Atteinte des centres par les nerfs afférents

Dans ces techniques, le stimulus de choix sera une excitation électrique des nerfs. Le pharmacologue aura donc à sa disposition un stimulus dont tous les paramètres (fréquence, tension, délai,

... / ...

TABLEAU III

TECHNIQUES utilisant un STIMULUS ELECTRIQUE

Animal	Etat de l'animal	Lieu de la stimulation	Méthode enregistrement	Produits étudiés	Références
Chien	éveillé	pneumogastrique cervical	- observation	- Méthadone	- SCHROEDER 1951 (122)
"	"	nerf laryngé supérieur	pression intratrachéale	- Morphine Codéïne	- KASE 1952 et 1959 (65-67)
Chat	anesthésié	"	"	- Coramiphen	- DOMENJOZ 1952 (31)
"	"	"	"	- Codéïne Coramiphen	- TONER et MACKO - 1952 (146)
"	"	"	"	- dibunate de Na Carbetapentane	- PLISNIER - 1954 - (105) - PELLMONT et BACHTOLD 1954 (100)
"	"	"	"	- Codéïne dextromethorphan	
"	"	"	"	- Codéïne	- LEVIS - 1955 (35)
"	"	"	"	- Péthedine Methadone Noscapine Codéïne Morphine	- HASS 1955 - (55)
"	"	"	"	- Pholcodine	- GREEN-WARD 1955 (49)
Cobaye					
Chat	"	"	"	- Thiambutène codéïne L 2909	- CHARLIER 1961 (24)

durée, ...) seront parfaitement définis et adaptables à la sensibilité variable de chaque animal. Cet avantage certain sera atténué par le fait qu'une seule partie du réflexe sera explorée et seuls les antitussifs agissant au niveau central pourront être étudiés.

Nous avons vu précédemment que la toux pouvait être le résultat d'excitations partant des régions innervées par les différentes branches du nerf pneumogastrique qui les transmet au centre bulbaire; le nerf pneumogastrique étant le principal vecteur des impulsions tussigènes vers le centre du réflexe, il était donc logique de le choisir comme point de départ d'excitations électriques.

SCHROEDER (122) a le premier suivi cette voie en provoquant chez le Chien une excitation du pneumogastrique cervical préalablement extériorisé dans une "anse vagale" cutanée. Cette technique nécessite une intervention chirurgicale minutieuse et longue, mais permet d'utiliser l'animal vigile et de répéter les expériences sur le même sujet.

En 1952, KASE (65) provoque une excitation du nerf laryngé supérieur du Chien, cependant les résultats avaient été moins satisfaisants que ceux obtenus par une simple excitation mécanique de la trachée (KASE), et c'est DOMENJOZ (31) qui, à la même époque, a mis au point la technique d'excitation du nerf laryngé supérieur chez le Chat anesthésié. Celle-ci est désormais la plus classique et la plus utilisée tant dans la recherche systématique d'une activité antitussive que dans les études plus approfondies d'un produit dont l'activité peut être comparée sur le même animal, c'est-à-dire dans des conditions expérimentales identiques, à celles de produits de référence. (PLISNIER H. (105)).

De nombreux auteurs ont repris les travaux de DOMENJOZ et on peut dire que tous les antitussifs connus jusqu'à présent ont été découverts ou étudiés par cette méthode, comme le témoigne le tableau III.

... / ...

b) - Excitation directe du centre de la toux

Il n'y a pas, à proprement parler, de techniques d'excitation directe du centre de la toux puisque nous avons vu précédemment qu'on ne peut parler d'un centre de la toux que comme d'un ensemble de trajets nerveux situés dans la medulla oblongata et la région pontique et étroitement lié au centre respiratoire. Il faut citer simplement l'expérience de BORISON (12) qui a pu obtenir des expirations répétées assimilables à un accès de toux, par excitation dorso-latérale de la medulla oblongata. Cette technique neuro-physiologique, de réalisation difficile, n'a été reprise qu'une fois récemment par KASE (68) lors de l'étude pharmacologique d'un antitussif et n'est pas utilisée dans la pratique courante.

4) - Méthode d'enregistrement

Les premières techniques décrites dans la littérature proposent la simple observation des animaux. On peut ainsi apprécier quantitativement (détermination du nombre d'accès de toux) et qualitativement la réaction (description des symptômes, distinction entre les accès de toux franche et les éternuements). Cette méthode a l'inconvénient d'être subjective, donc sujette aux variations d'interprétation de l'expérimentateur. Plus tard, différents moyens ont été proposés.

Si l'on opère sur des animaux anesthésiés, on peut enregistrer, soit les variations de la pression intra-trachéale à l'aide d'une canule reliée à un tambour, à condition de laisser la glotte libre puisque sa fermeture est indispensable à la réalisation de la pression intrathoracique, soit les contractions des muscles thoraciques.

Si les animaux sont vigiles, certains auteurs proposent l'enregistrement du son émis par l'animal au moment de la toux (microphone placé sur l'animal ou dans l'enceinte où il se trouve), l'enregistrement des variations de volume de la cage thoracique à l'aide d'un pneumographe ou même des modifications de pression de l'enceinte où se trouve l'animal.

... / ...

E - Classification chimique des antitussifs

La thérapeutique antitussive a suivi l'évolution classique des thérapeutiques issues du règne végétal: limitée pendant des siècles à la seule utilisation de préparations galéniques opiacées, elle s'est étendue, par la suite, aux alcaloïdes eux-mêmes, puis à leurs dérivés et plus récemment à des substances synthétisées qui n'ont plus aucune relation structurale avec les principes actifs de l'opium.

Les médications antitussives peuvent donc être classées comme suit:

- Alcaloïdes de l'opium et leurs dérivés: (action centrale),
- Composés synthétiques à action morphinique (" "),
- Substances " non morphiniques:
  - substances à action centrale,
  - " " " périphérique.

1) - Alcaloïdes de l'opium

La pharmacologie de l'opium étant une des mieux connues, nous ne ferons que rappeler brièvement les principaux alcaloïdes ne tenant compte que de leurs propriétés antitussives:

a) - Alcaloïdes phénantréniques

La morphine et la codéine sont les deux substances le plus fréquemment utilisées pour la mise au point des techniques d'étude des antitussifs. Nous ne citerons que pour mémoire les principaux auteurs qui les ont employés à cette fin:

- Morphine et Codéïne:
  ERNST (38), FRIEBEL (39), GREEN (49), ROSIERE (113), GROSS (52), SILVESTRINI (132).
- Morphine:
  EICHLER (35)
- Codéïne:
  HUET (62), GRANIER (46), KOHLI (74).

.../...

En clinique, la morphine s'est révélée moins active qu'en pharmacologie animale, comme l'ont montré GRAUENSTEIN et DEVLOO (48), pratiquant des essais en double aveugle. De plus, ses propriétés dépressives centrales et stupéfiantes empêchent son utilisation courante dans ce domaine.

La codéïne, par contre, est encore largement utilisée en thérapeutique où de nombreuses épreuves en double aveugle ont confirmé sa grande efficacité: HILLIS (61), BICKERMAN (6).

Parmi les dérivés de ces deux alcaloïdes, citons:

- la dihydromorphine: TAGAKI (142)
- " " morphinone: FRIEBEL (39)
- la dihydrocodéïne: " (40)
- " " codéïnone: ERNST (38)

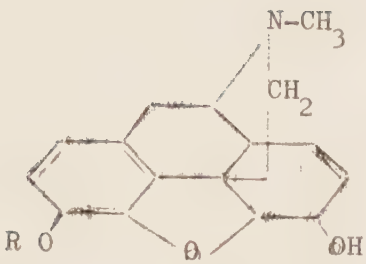
Ces substances sont antitussives mais peu utilisables chez l'Homme en raison de leurs propriétés stupéfiantes.

La 3(2'-morpholinoéthyl) morphine ou Pholcodine a été synthétisée par CHABRIER en 1950 (21,22) et étudiée par plusieurs pharmacologues: MAY (92), GREEN (49), MULLINOS (96) qui lui ont reconnue une valeur supérieure à celle de la codéïne sans action dépressive sur la respiration. Les résultats cliniques ont été, aussi, satisfaisants (HEFFRON (57), SNELL (137), RYDE (115)) et aucun effet d'accoutumance n'a été signalé.

b) - Alcaloïdes isoquinoléiques

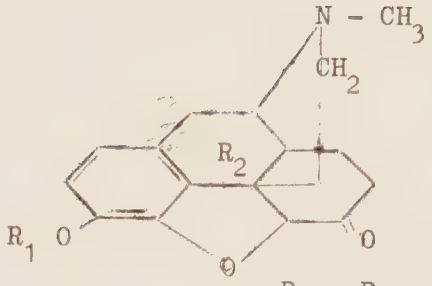
Parmi les constituants de l'opium, il faut citer la Narcotine ou noscapine, de structure isoquinoléïque, dont l'activité dépressive dans la toux est spécifique. Ce produit a fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques: WINTER (154), KONZETT (76,77), LA BARRE (81), et cliniques:

.../ ...

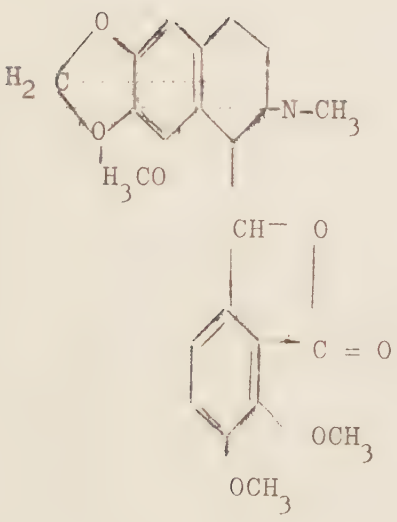


R = H: Morphine
R = CH_3: Codéïne

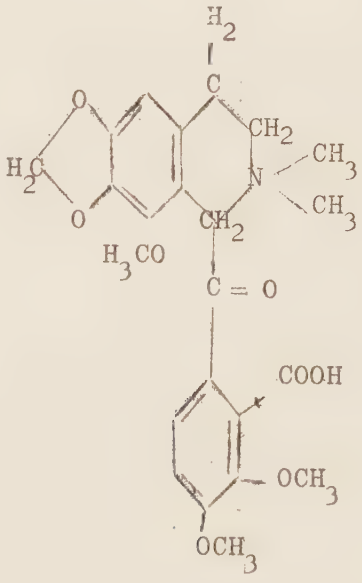
R = CH_2CH_2N⟨ ⟩O : Pholcodine



$R_1 = R_2 = H$: dihydromorphinone
$R_1 = CH_3$; $R_2 = H$: dihydrocodéïnone



Narcotine



Narcéïne

Structure chimique de la morphine, la narcotine et de leurs principaux dérivés à propriétés antitussives

BICKERMAN (6), BERGMAN (5), SEGAL (125).

Les dérivés de la narcotine: narcéine et son ester éthylique sont aussi actifs que la codéïne KELENTEY (39), GLOESNER (42).

2) - Composés synthétiques à action morphinique

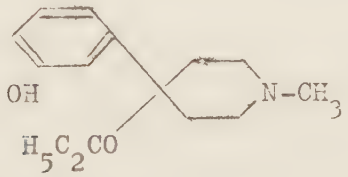
Durant ces trente dernières années, de nombreuses substances se rapprochant pharmacologiquement de la morphine ont été synthétisées. Comme pour les dérivés de l'opium, nous ne citerons que celles qui présentant un intérêt au point de vue strictement antitussif.

- La Péthidine:

ou méthyl-1 phényl-4-pipéridyl-4-carboxylate d'éthyle.

synthétisée par EISLEB (36) a été étudiée en tant qu'antitussif par SCHAUMANN (120) et GREEN (49) qui l'ont trouvée plus activeque la codéïne, mais moins que la morphine. Son activité analgésique est beaucoup plus puissante que son activité antitussive.

Il en est de même de son dérivé hydroxylé et cétonique:
ou méthyl-1 (m. hydroxy-phényl)-4 propionyl-4 pipéridine,

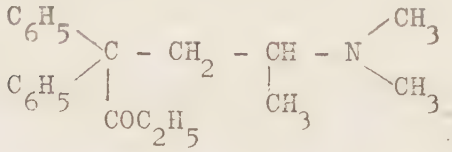


et de son dérivé triméthylé sur le noyau pipéridine (GUSEVA (54), qui, de plus, est fortement dépresseur respiratoire.

... / ...

- La méthadone:

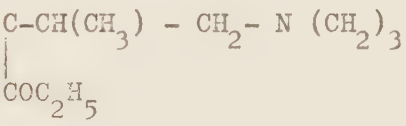
ou diméthylamino-2 diphényl-4 oxo-5 heptane



décrite par EISLEB (36) et étudiée par WINTER et FLATAKER (153) GREEN-WARD (49), REICHLE (109), GUSEVA (54), HUET (62), est classée parmi les corps les plus actifs, surpassant la morphine et la codéïne.Les résultats cliniques ont été très favorables: TREDENLENBURG (147), HILLIS (61), RASCH (108), malgré ses effets secondaires désagréables (sédation, euphorie).

- son isomère,

l'isométhadone ou diméthylamino-6 diphényl-4,4, méthyl-5 hexanone-3.

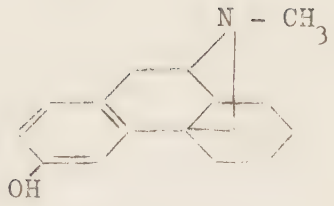


a la particularité de présenter des propriétés antitussive et analgésique quantitativement différentes selon la forme optique considérée. La l-isométhadone est plus active que la forme d (REICHLE (109)), les deux formes d et l étant plus antitussives qu'analgésiques. Il semble, en outre, qu'il n'y ait aucune relation entre ces deux propriétés (SILVESTRINI (132)).

- Le Racemorphan

ou hydroxy 3 N-méthylmorphinane, dont la structure s'apparente à celle de la morphine, est plus analgésique qu'antitussif FRIEBEL (39); la forme l étant plus active que la forme d.

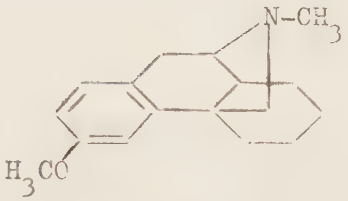
... / ...



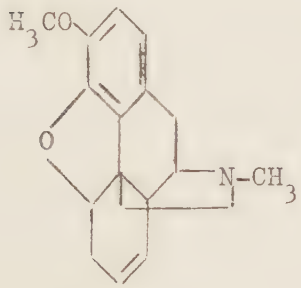
- Le Dextrometorphan

ou éthoxy 3 N méthylmorphinane

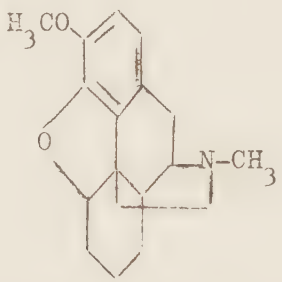
Le Dextrométorphan est l'éther méthylique dextrogyre du race morphan



Il peut être considéré comme un dérivé de la codéïne par élimination du pont oxygène C_4-C_5, de l'oxydrile en C_6 et de la double liaison C_7 - C_8.



Codéïne



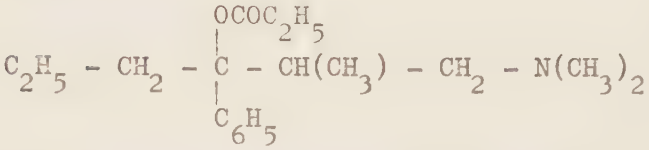
Dextrométorphan

Sa préparation a été décrite par SCHNIDER et GRÜSSNER (121). Ses propriétés pharmacologiques ont été étudiées par PELLMONT et BACHTOLD (100), REICHLE et FRIEBEL (109), VAN DONGEN (149), MARCATO et MARCUCCI (89). D'après ces auteurs, ses propriétés antitussives sont voisines de celles de la codéïne; il est doué d'activité analgésique, dépressive respiratoire et constipante.

... / ...

De nombreuses publications cliniques font état de son intérêt en tant qu'antitussif doué de propriétés analgésiques et de phénomènes d'addiction CASS et FREDERIK (19), KUMMER (80), SKURSKY (136), RALPH (107), GRAFE (45).

- le Propoxyphène ou diméthylamino 4-méthyl-3 diphényl 1,2 propionyloxy-2 butane



décrit par POHLAND (106) et étudié par SILVESTRINI (132) est aussi antitussif sous sa forme d que sous sa forme l, alors que du point de vue analgésique, la forme d est plus active.

Comme on peut le voir, toutes ces substances possèdent la double potentialité analgésique-antitussive, liées ou non par une relation de cause à effet, présentant chacune un profil pharmacologique caractéristique selon la prédominance de l'une ou l'autre activité. Elles ont en commun avec les dérivés morphiniques de provoquer des phénomènes d'addiction, probablement dus à leur pourvoir analgésique.

Il était donc intéressant et même nécessaire de synthétiser de nouveaux composés, plus spécifiquement anti-tussifs, et présentant le moins possible d'actions secondaires gênantes. Nombreuses sont les substances décrites comme telles. Nous les citerons en essayant de les classer d'une part, par leur lieu d'action, central ou périphérique, et d'autre part, par leur structure chimique, tâche difficile étant donné la grande variété de structure rencontrée dans ce groupe peu homogène où les relations structure-activité ne sont pas toujours établies.

... / ...

3) - Substances synthétiques non morphiniques

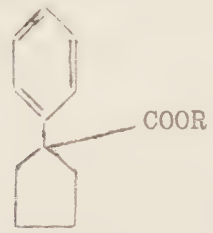
a) - Action centrale

La variabilité structurale des antitussifs connus à ce jour vient du fait que la plupart d'entre eux ont été découverts plus ou moins accidentellement au cours du triage pharmacologique systématique de séries synthétisées dans un but de nouveauté chimique plus qu'en vue d'une action pharmacologique précise.

Nous passerons en revue les principaux antitussifs synthétisés jusqu'à maintenant.

- Esters basiques d'acides phénylacétiques substitués:

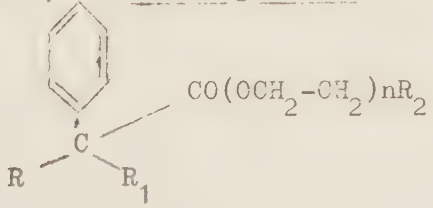
- le Caramiphène éthane sulfonate ou Taoryl



$R = CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$

- Le Taoryl est l'éthane sulfonate de la base (caramiphène) dont le chlorhydrate est connu sous le nom de Parpanit et utilisé pour ses propriétés para-sympatholytiques dansla maladie de Parkinson. Synthétisé par MARTIN et HÄFLIGER (90), il fut reconnu comme antitussif par les études pharmacologiques de TONER (146) et cliniques de ABELMANN (1), CASS et FREKERIK (20).

- De structure voisine, un certain nombre d'esters d'acides phénylcycloalkanes carboxyliques ont été synthétisés par MORREN (94). Parmi ceux-ci, le Carbétapentane:



$R - R_1 = (CH_2)_4$

$n = 2$

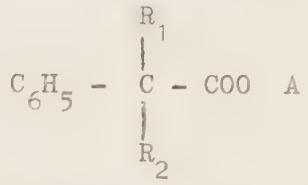
$R_2 = N(C_2H_5)_2$

... / ...

s'est révélé le plus actif chez l'animal: ROTH (114) et chez l'Homme: DEPOORTER (30), CARTER et MALEY (18).

- Esters d'acides phénylacétiques substitués

De nombreux composés répondant à la formule suivante:



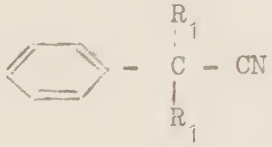
où R_1 et R_2 représentent des radicaux monovalents, alkyls, aryls ou hétérocycliques, et A des radicaux substitués par un groupement basique. La plupart d'entre eux allient leur activité antitussive à un effet spasmolytique plus ou moins marqué: NAJER et CHABRIER (98), CHEYMOL et GLUDICELLI (27).

L'oxeladine

ou 2(2'-diéthylaminoéthoxy) éthyl 1'-diéthyl-phénylacétate a été reconnu par KOHLI et GUPTA (74) comme égal ou même légèrement supérieur à la codéïne sur l'animal; chez l'Homme, il a été étudié par ROBERTS (69).

Acétonitriles

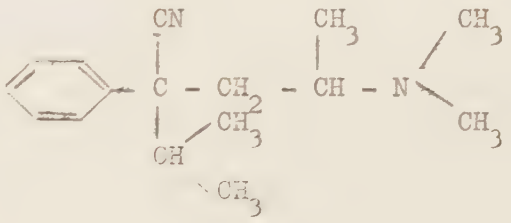
Les acétonitriles trisubstitués peuvent être rattachés directement à ce groupe si on considère le remplacement de la fonction ester par le groupement nitrile. Ils répondent à la formule générale:



... / ...

Certains sont analgésiques et spasmolytiques alors que d'autres, sans effet analgésique, sont de puissants antitussifs. L'étude de leur structure a montré que les premiers possèdaient deux carbones asymétriques adjacents, alors que dans les seconds, les deux carbones asymétriques sont séparés par un atome de carbone.

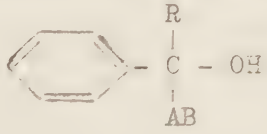
Tel est le cas de l'isoamile ou α isopropyl α (β-diméthylaminopropyl) phénylacétonitrile.



étudié du point de vue pharmacologique par KRAUSE (78), BOISSIER (10), BRÄUNLICH (14), et du point de vue clinique par CHRISTOFFEL et KOLBERG (28). Et bien que BRAUNLICH ait mis en doute l'absence de caractères morphiniques de cette molécule, les observations cliniques n'ont décelé aucun phénomène de tolérance et aucun effet nocif sur les fonctions respiratoires.

- Alcools

Le remplacement du groupement nitrile par un groupement hydroxylé conduit aux dérivés de structure suivante:



R pouvant être alkyl, cycloalkyl ou aryl, A = $\begin{matrix} CH\text{-}CH_2 \\ | \\ R_1 \end{matrix}$

B = dialkylamino.

... / ...

De tels corps ont été synthétisés dans un but d'activité spasmolytique et décrits comme tels.

— le chlophedianol

(R = O,Cl,C_6H_4; A = CH_2CH_2; B = $N(CH_3)_2$),

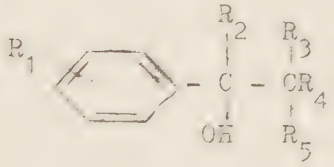
a été trouvé antitussif par GÖSSWALD (44) et broncholytique par BOYD (13). Il semble dénué d'activité secondaire en clinique SCHRÖER (123) .

— le tussukal

(R = C_5H_5, A = CH-CH_3; B = N⟨ ⟩);

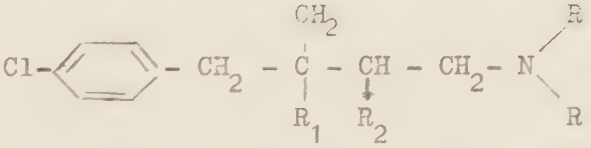
voisin du dérivé précédent, appartient à une longue série de molécules, où les différents substituants ont donné lieu à une importante étude de relation structure-activité LINDNER - STEIN (87)).

La structure de ces composés peut être résumée ainsi:



— KAT 256

Le KAT 256 ou Silomat ou p-chlorophényl-2,3-diméthyl 4 diméthylaminobutanol, dérive des précédents par le remplacement du radical phényl par un radical chlorobenzyl:



Trois cents composés de ce type ont été synthétisés par BERG (4). Le KAT 256 a été étudié par ENGELHORN (37) qui lui a reconnu une action antitussive spécifiquement centrale associée à une action

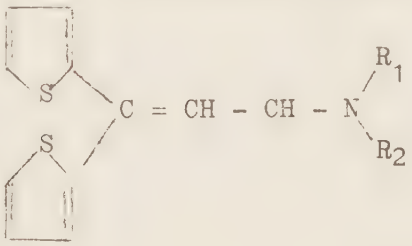
... / ...

stimulante respiratoire, antagoniste de l'action dépressive respiratoire de la morphine. A ce titre, ce composé est particulièrement intéressant en clinique (RIEPEL (110)).

— Dérivés divers

- " du Thiophène

Des dérivés thiophéniques présentant une liaison éthylénique et répondant à la structure suivante:

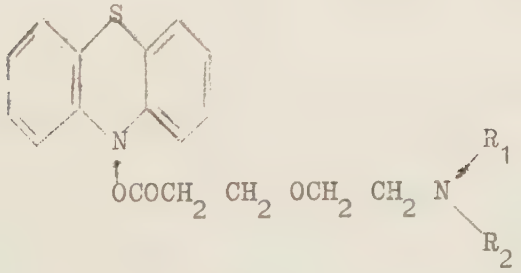


ont été proposés comme antitussifs: parmi eux, le thianebutène ou 3-diéthylamino-1, 1 di(2-thiényl) butylène où R = CH_3; N R_1R_2= N $(C_2H_5)_2$)CREEN-WARD (49), ainsi que son dérivé pipéridiné, KIMURA (72). Leur emploi clinique est limité par leurs propriétés d'addiction (ISBELL et FRASER (63)).

- Dérivés de la Phénothiazine

Le Diméthoxanate ou 2' diméthylaminoéthoxyéthyl phénothiazine 10 carboxylate, synthétisé par SEEMAN (124).

$R_1 = R_2 = CH_3$

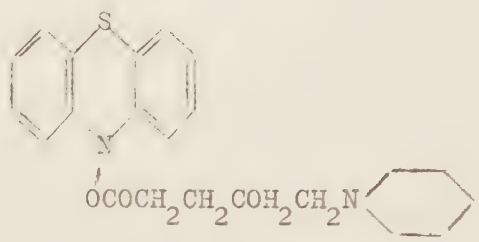


... / ...

a été étudié pharmacologiquement par CHAPPEL, STEGEN et GRANT (23 bis). A l'inverse des autres phénothiazines couramment utilisées en clinique, l'activité antitussive de cette molécule semble être spécifique et non accompagnée de propriétés dépressives centrales, anticholinergiques et antihistaminiques (BOISSIER (10)).

L'essai clinique a été réalisé par KLEIN (73) et PARISH (99).

Le Pipazethate ou Selvigon est un dérivé de l'aza phénothiazine; il est très voisin du diméthoxanate.



Il a été synthétisé au cours d'une recherche de spasmolytiques. Son action antitussive décelée par GULDEN (53) est, selon lui, accompagnée d'une action centrale pouvant aller jusqu'au sommeil, alors que LIBAL (86) nie son action sédative. Bien que moins actif que la codéïne, ce produit est très utilisé en clinique (HALSREITER (56)).

- Dérivés de l'oxadiazole

L'oxolamine ou phényl 3 (2' diéthylaminoéthyl) 5 oxadiazole a été décrit par SILVESTRINI et POZZATTI (133) (134), comme étant antitussif, plus actif dans les techniques mettant en jeu une excitation chimique périphérique que dans les tests où l'excitation est centra-

... / ...

le. Cette activité va de pair avec une action anti-inflammatoire marquée et une action analgésique se manifestant exclusivement sur les tissus inflammés.

L'originalité de ce corps réside donc dans la combinaison de ces activités qui apparaissent pour des posologies identiques. Mais l'explication de son action antitussive comme résultant d'une synergie entre une activité antiinflammatoire périphérique et un point d'impact central est encore à l'état d'hypothèse.

Un autre dérivé de l'oxadiazole, portant un noyau pipéridino et une chaîne latérale diphénylique, a été récemment étudié par TARDOS (92).

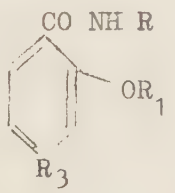
- Amides

Un certain nombre de composés possèdant une fonction amide ont été étudiés du point de vue de leur activité antitussive.

Tel est le cas du N tétraméthyl 1'1'3'3' butyl-2 diéthylaminoacétamide (ou TR 310), synthétisé et étudié par MALEN et BOISSIER (38,8,9) avec vingt-cinq composés voisins. Tous les composés de cette série sont à la fois anesthésiques locaux, antispasmodiques et certains analgésiques. Aucune étude clinique n'a été publiée jusqu'à maintenant.

$$(CH_3)_3\text{-}C - CH_2 - C(CH_3)_2\ NHCO\ CH_2N(C_2H_5)_2$$

Le 4 trifluorométhyl allyloxy 2 n (β diméthylaminoéthyl) benzamide ou 305 CE a été retenu parmi une série de dérivés répondant à la formule générale:

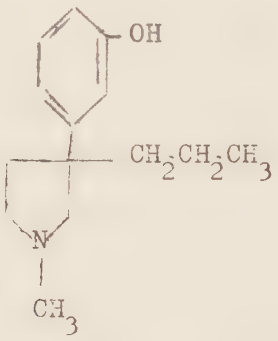


... / ...

L'étude pharmacologique a révélé une action antitussive associée à une activité analgésique et anesthésique locale (VACHER (148)).

- Dérivé phénolique

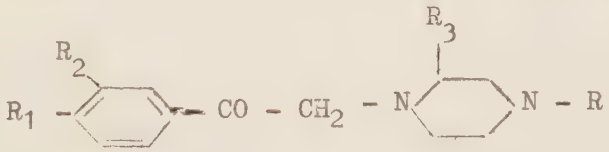
Un seul composé phénolique a été décrit jusqu'à présent en tant qu'antitussif. Il s'agit du méthyl 1 propyl-3 p. hydroxyphényl-3 pyrrolidone phénol ou CI 572 décrit par WINTER (156).



Ce corps possède une activité antitussive et analgésique supérieure à celle de la codéïne. Aucun essai clinique n'a encore été relaté.

- Dérivés de la Pipérazine

Des dérivés de la pipérazine répondant à la structure générale ci-dessus ont été synthétisés par MORREN (95):

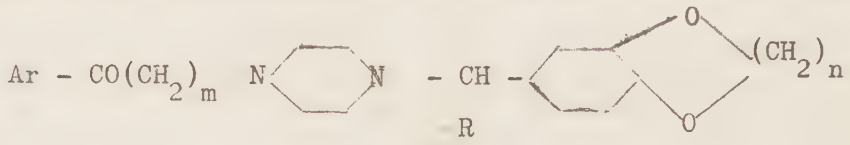


Parmi ceux-ci, un composé semble avoir une activité antitussive intéressante, supérieure à celle de la codéïne.

1) $R_1=R_2=OH; R_3=H;\quad R=CH_2CH_2OH$

... / ...

Récemment, les travaux de MORREN ont été repris par LE DOUAREC (83) qui a étudié une série de produits de structure suivante:



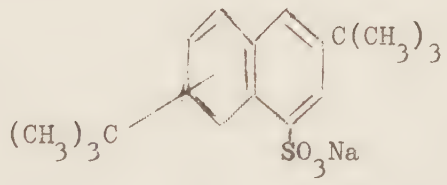
dont l'activité antitussive intéressantes n'a pas encore été confirmée par des résultats cliniques.

a) - Action périphérique

A côté des antitussifs dont le mécanisme d'action est principalement central, quelques produits agissent plus spécifiquement au niveau des terminaisons sensibles du réflexe.

- Dibunate de sodium et ses dérivés

Le 2-6 di(t-butyl) naphtalène sulfonate de sodium ou Becantex a été l'un des premiers antitussifs de synthèse utilisé avec succès en clinique.



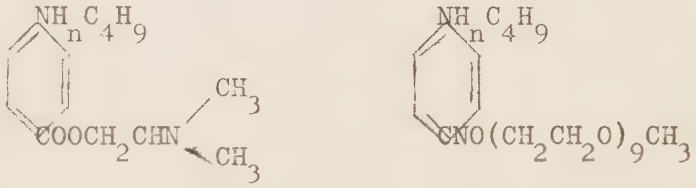
Il a été étudié principalement par VLEESCHOUVER (150) qui a démontré son action périphérique et par SALERNO (117). L'étude clinique de ce composé a donné des résultats favorables dans des affections graves du tractus respiratoire (GRIGNON (51), GRASSI (47), SIMON (135), CREMONCINI (29)).

... / ...

- Benzonatate

La découverte de l'action antitussive du benzonatate est le résultat des travaux de BÜCHER (15) qui, le premier, a mis en évidence le rôle important des stretchs récepteurs pulmonaires dans le mécanisme de la toux, et qui systématiquement, a étudié l'action d'une série d'anesthésiques locaux voisins de la Tétracaïne sur les récepteurs pulmonaires, les récepteurs tactiles et les thermorécepteurs.

Le benzonatate ou Tessalon est un ester de l'acide p. butylamino benzoïque, comme la tétracaïne, mais diffère de celle-ci par la présence d'une chaîne polyéthylène glycol et la disparition de la fonction diéthylaminoéthyl.



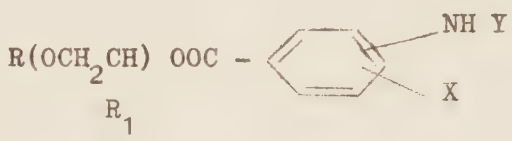
Comparé à différents anesthésiques locaux (tétracaïne, procaïne, dibucaïne, lidocaïne, leucinocaïne), antihistaminique (triphennamine) et spasmolytiques (adiphénine, caramiphène), le benzonatate s'est révélé le plus actif en tant que dépresseur des récepteurs pulmonaires et anesthésique de conduction. Par rapport aux anesthésiques locaux cités, il est le seul à possèder une forte activité sur les stretchs récepteurs et les récepteurs tactiles tout en étant peu anesthésique local et peu anesthésique d'infiltration (BEIN-BÜCHER (2).

... / ...

L'hypothèse de son action antitussive faite par BÜCHER a été confirmée du point de vue pharmacologique par SELL (126), SILVESTRINI et MAFFII(122), et du point de vue clinique par de nombreux auteurs, dont nous ne citerons que les principaux: HERZOG (59), GIULANO (41), GREGOIRE (50), NAEGELI (97).

Il faut noter cependant que si l'action périphérique est prédominante, le benzonatate possède une action centrale démontrée par l'inhibition des réflexes spinaux polysynaptiques (BEIN - BÜCHER (2)).

Les succès remportés par ce composé ont conduit à la synthèse de dérivés de structure voisine:



qui se sont révélés antitussifs et anesthésiques locaux, mais qui semblent peu utilisés en clinique.

4) - Conclusion en vue d'établir des relations entre la structure chimique et l'action antitussive

Si on considère le nombre d'antitussifs synthétisés et introduits en thérapeutique récemment, il semble, à première vue, qu'il y ait beaucoup de progrès faits dans ce domaine. En effet, beaucoup de ces substances sont vraiment efficaces et dénuées des actions secondaires que l'on reproche aux dérivés morphiniques. Cependant, la codéïne a encore une place de choix dans la thérapeutique et seul le dextrométhorphane lui est supérieur, si l'on considère les doses utilisées. L'antitussif idéal reste donc encore à découvrir.

... / ...

Bien que beaucoup de médicaments aient été découverts au hasard d'un screening systématique de molécules synthétisées dans un but de nouveauté chimique, il est beaucoup plus satisfaisant pour le chimiste d'élaborer une molécule dont il pourra prévoir l'activité à partir de données théoriques.

- Résultat des études de relations entre la structure chimique et l'activité pharmacologique

L'examen des molécules antitussives permet,en effet, de faire un certain nombre de remarques quant à leur structure et de dégager certains traits communs qui peuvent servir de base à l'élaboration de molécules nouvelles.

Comme nous l'avons vu précédemment, on peut séparer les antitussifs en morphiniques et non morphiniques. Les premiers ont en commun, avec les dérivés opiacés, de possèder un groupe amine tertiaire, où l'atome d'azote fait partie d'une chaîne ouverte ou d'un cycle fermé. Dans les seconds, dont la plupart ont été synthétisés en vue d'obtenir des produits dénués des effets secondaires gênants des alcaloïdes morphiniques, une structure commune semble se dégager:

- à l'une des extrêmités de la molécule, se trouve une accumulation de groupements lourds, aryles, cycloalkyles ou hétérocycliques;

- un atome d'azote basique se situe généralement vers l'autre extrêmité de la molécule;

- la liaison entre ces deux pôles peut s'effectuer de façons différentes, mais deux structures principales semblent se dégager;

... / ...

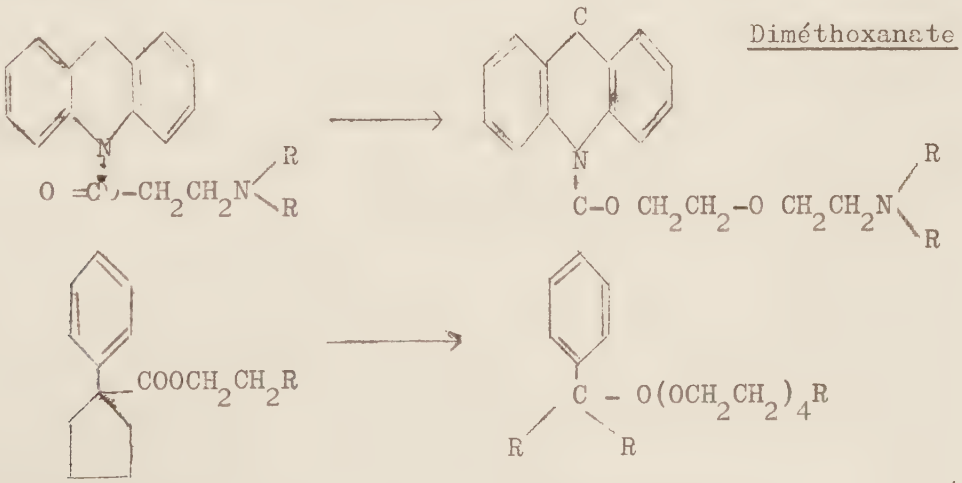
l'une apparentée à leur structure d'antispasmodique, l'autre à la structure de la méthadone.

- Antitussifs présentant une structure d'antispasmodique

La théorie de PFEIFFER (104) relative à la structure des anticholinergiques est désormais classique. D'après celui-ci la plupart des molécules présentant une activité anticholinergique sont des esters dans lesquels la distance interatomique entre le centre d'un des deux atomes d'oxygène et le centre du groupement méthyle lié à l'azote est comparable à la distance interatomique des mêmes groupements de l'acétylcholine.

La théorie de PFEIFFER étant applicable aux esters dialkylaminoalkyls de l'acide phénothiazine-10-carboxylique, VON SEEMANN (124) a pensé qu'une légère modification structurale pouvait réduire leur activité anticholinergique. En effet, l'allongement de la chaîne latérale par un groupement éthoxy donne le diméthoxanate, dans lequel l'activité stropinique a presque disparu, alors qu'apparaît une activité antitussive importante; il en est de même pour les dérivés de l'acide azaphénothiazine-10-carboxylique: les esters alkylés étant spasmolytiques alors que les esters alkoxy alkylés sont antitussifs et faiblement spasmolytiques.

Un autre exemple de ce type est donné par le carbétapentane qui diffère du caramiphène; parasympatholytique par l'allongement de la chaîne latérale estérifiée:



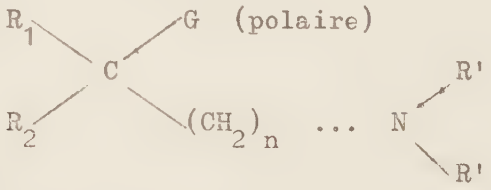
... / ...

- Antitussifs présentant une structure apparentée à celle de la Méthadone

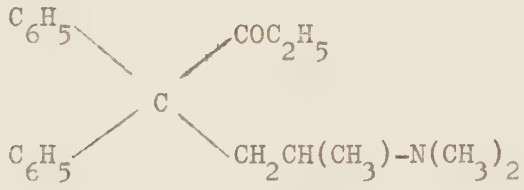
Ce groupe comprend des molécules qui n'ayant plus de fonction ester, sont apparentées à la Méthadone et sont caractérisées par:

- la présence d'un carbone asymétrique porteur d'un ou deux substituants encombrants (volumineux), d'une chaîne latérale possèdant l'atome basique et d'un radical polaire (nitrile, hydroxylé...).

Des composés ont comme structure générale:

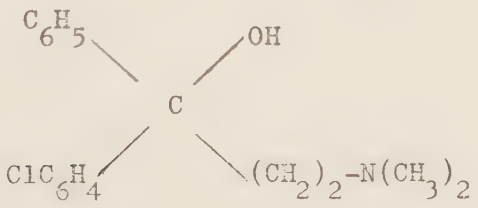


qui s'apparente bien à celle de la méthadone:



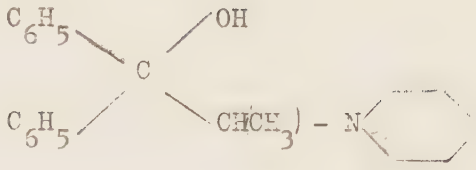
Nous citerons pour mémoire:

- le Chlophedianol:

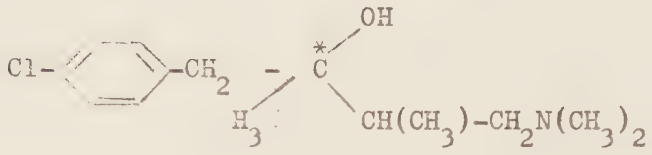


... / ...

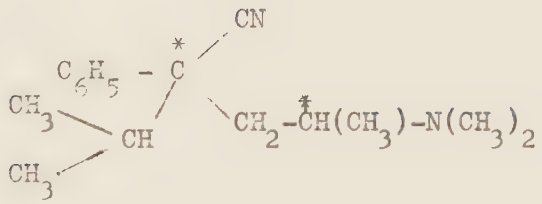
- le Tussukal:



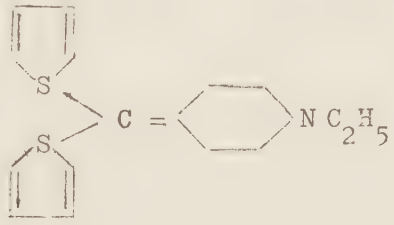
- le KAT 256 ou Silomat:



- l'Isoamile:



Dans certains composés de ce groupe, la chaîne latérale porteuse de l'azote se referme sur le carbone central en occupant ainsi deux valences, comme dans le cas du pipéridyl-méthane:



... / ...

Enfin, il faut dire que cette classification faite dans un but de découvrir les relations qui existent entre la structure chimique et l'action pharmacologique antitussive est imparfaite puisqu'un certain nombre de produits décrits antérieurement semblent originaux et ne peuvent s'y intégrer.

Pour ces molécules, tels le benzonatate et le dibunate de sodium dont l'efficacité n'est plus à démontrer, aucune explication de leur activité par rapport à leur structure chimique n'a pu être faite jusqu'à maintenant.

INTRODUCTION

Nos travaux personnels ont comporté la recherche systématique de l'activité antitussive d'une série de composés chimiques qui nous ont été proposés, et l'étude pharmacologique approfondie de la molécule la plus active.

L'exposé de notre travail sera précédé de la présentation de la série étudiée, et de la description sommaire de la synthèse chimique des différentes molécules élaborées.

- PRESENTATION de la STRUCTURE CHIMIQUE de la SERIE ETUDIEE

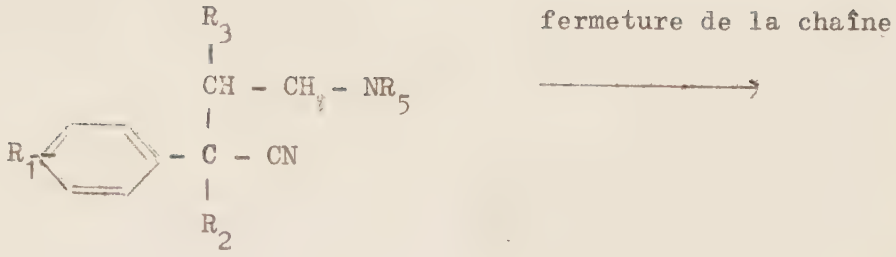
Se basant sur les données théoriques précédemment évoquées, concernant la relation entre la structure chimique et les propriétés antitussives d'un certain nombre de produits utilisés comme tels, PERRON et ses collaborateurs ont synthétisé une série de molécules répondant à la structure générale suivante:

Ces molécules possèdent donc un noyau phényle, un groupement nitrile et un carbone asymétrique.

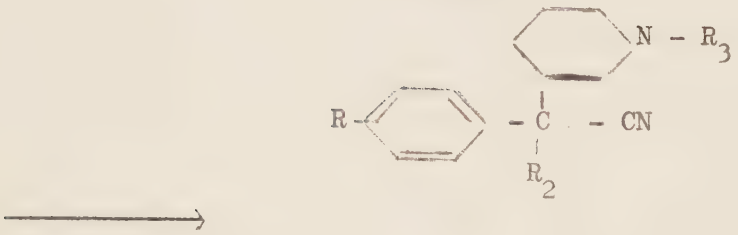
Le groupe R''' comprend un atome d'azote basique appartenant à une chaîne carbonée linéaire ou à un cycle fermé.

Les produits peuvent se classer en deux groupes de structure suivante:

... ...



Groupe I

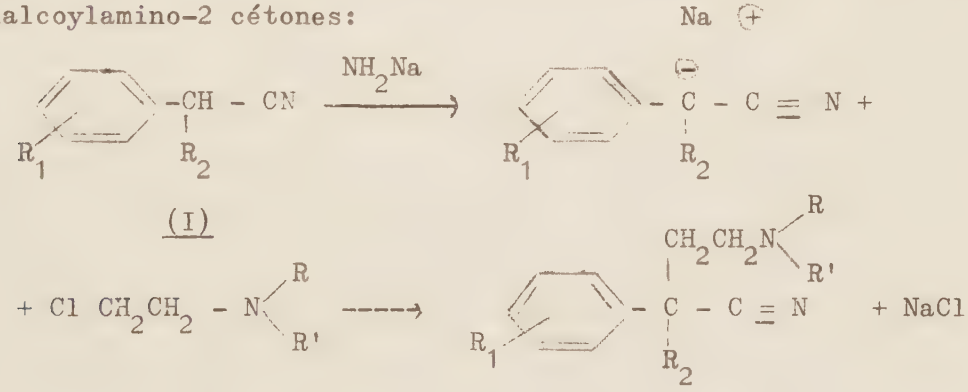


Groupe II

- SYNTHESE CHIMIQUE

- Préparation des dérivés du Ier groupe

Les phénylacétonitriles substitués (I) sodés dans le toluène au moyen de sodium sont condensés dans le même solvant avec des chloro 1 N- dialcoylamino-2 cétones:



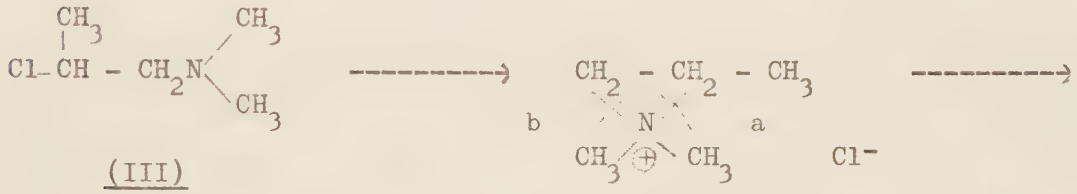
(I)

(II)

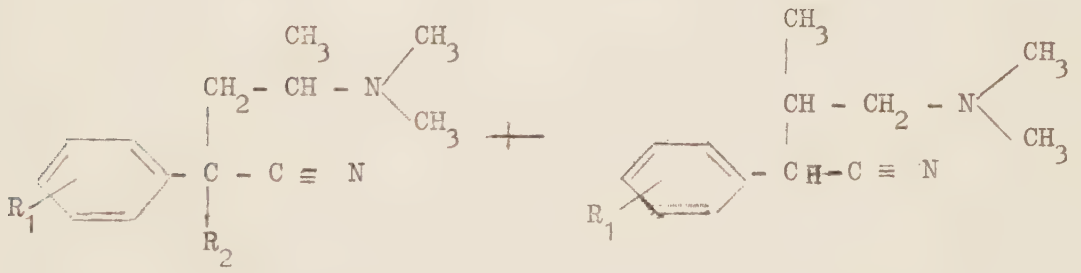
... / ...

Après les traitement habituels, les aminonitriles (II) sont purifiés par distillation sous le vide; ils fournissent en général des sels bien cristallisés.

Quelques substances ont été également préparées dans les mêmes conditions par action du diméthylamino-1-chloro-2-propane (III) sur les dérivés sodés des nitriles (I). Il est connu que la β - chloroamine (III) réagit sous forme d'un ammonium quaternaire cyclique de l'éthylène imine (IIIa), susceptible en s'ouvrant selon (a) ou (b) de fournir deux carbocations différents.



(III)

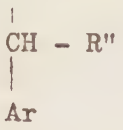


(IV) (V)

La réaction conduit alors à deux types de dérivés: l'un avec une chaîne β diméthylaminopropyle (IV), l'autre avec une chaîne α méthyl β diméthylamino éthyle. Ces deux composés voisins ne peuvent pas, en général, être séparés par distillation. Pour des raisons d'ordre stérique, le composé (IV) est le plus souvent largement prépondérant. Pour les produits étudiés dans ce travail, on a utilisé le mélange d'isomères sans préciser leur proportion. Les substances sont décrites dans le tableau suivant avec la structure (IV), étant entendu qu'il peut s'agir de mélanges.

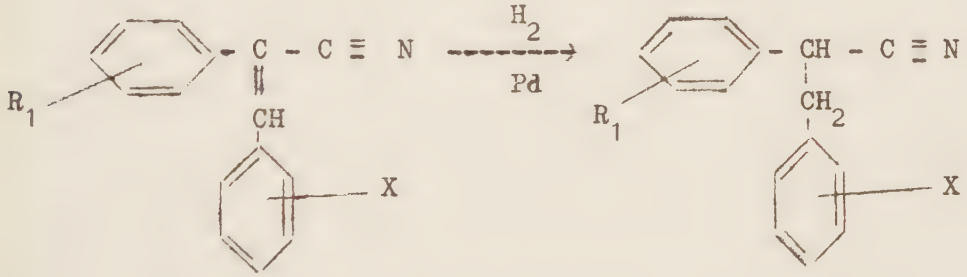
... / ...

En ce qui concerne les nitriles (I) employés comme matière première, à l'exception de quelques termes, ce travail a plus particulièrement porté sur des composés dans lesquels le radical R_2 a la structure suivante:

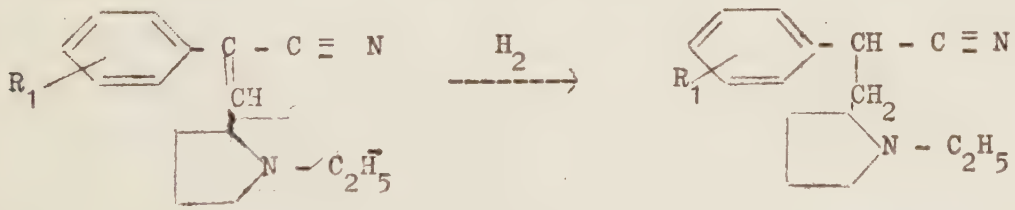


où R" peut être soit un atome d'hydrogène, soit un radical alkyl inférieur; Ar étant un noyau aromatique ou un hétérocycle, tel que pyryl-2 N substitué, furyl-2 ou tétrahydrofuryl-2.

Lorsque Ar est un noyau aromatique, les nitriles (I) sont aisément préparés par hydrogénation catalytique au moyen de charbon palladié des dérivés benzylidèniques correspondants, la réaction étant conduite au sein de solvants tels que l'éthanol ou l'acétate d'éthyle:

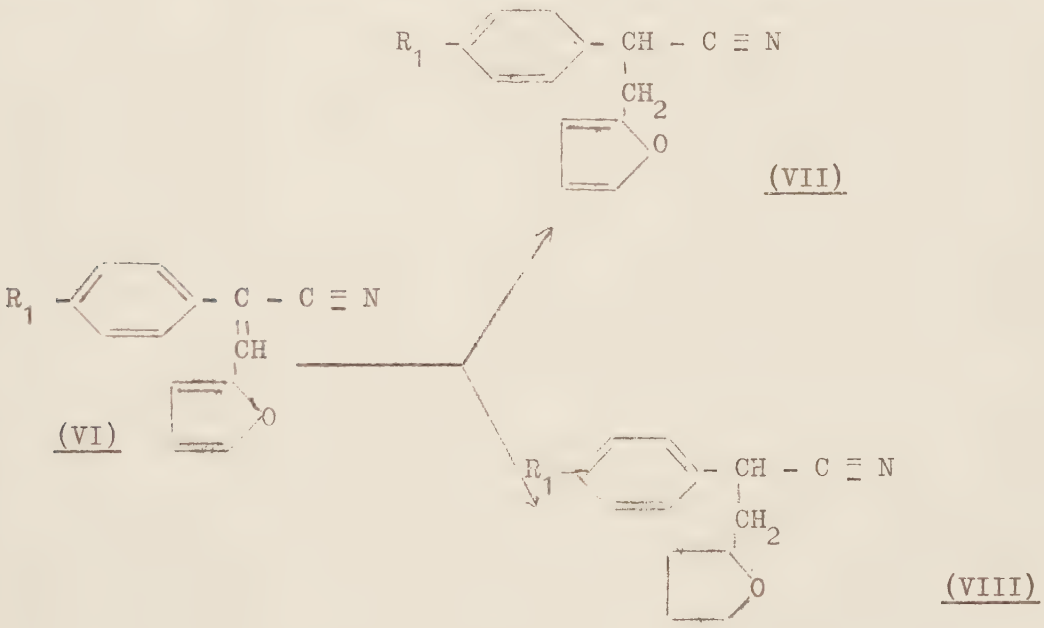


Lorsque le radical Ar est constitué par un noyau éthyl-1-pyrryl, la même réduction du dérivé éthylénique correspondant donne après absorption d'un peu plus d'une molécule d'hydrogène, un mélange du produit attendu, souillé par une petite quantité d'impuretés basiques facilement séparables (PESSON (101)).



... / ...

Lorsque Ar est constitué par un noyau furyl-2, les nitriles (I) peuvent être préparés par condensation des phénylacétonitriles sodés et du chlorure de furfuryl, mais cette méthode, délicate à mettre en oeuvre en raison de l'instabilité du chlorure, conduit à un produit difficilement purifiable. Les nitriles désirés ont pu être préparés par hydrogénation catalytique contrôlée des furfurylidènes phényl acétonitriles correspondants (VI) au moyen du charbon palladié. Lorsqu'elle est conduite dans les conditions habituelles, cette opération fournit un mélange de dérivés furfuryliques (VII) et tétrahydrofurfuryliques (VIII):



(VII)

(VI)

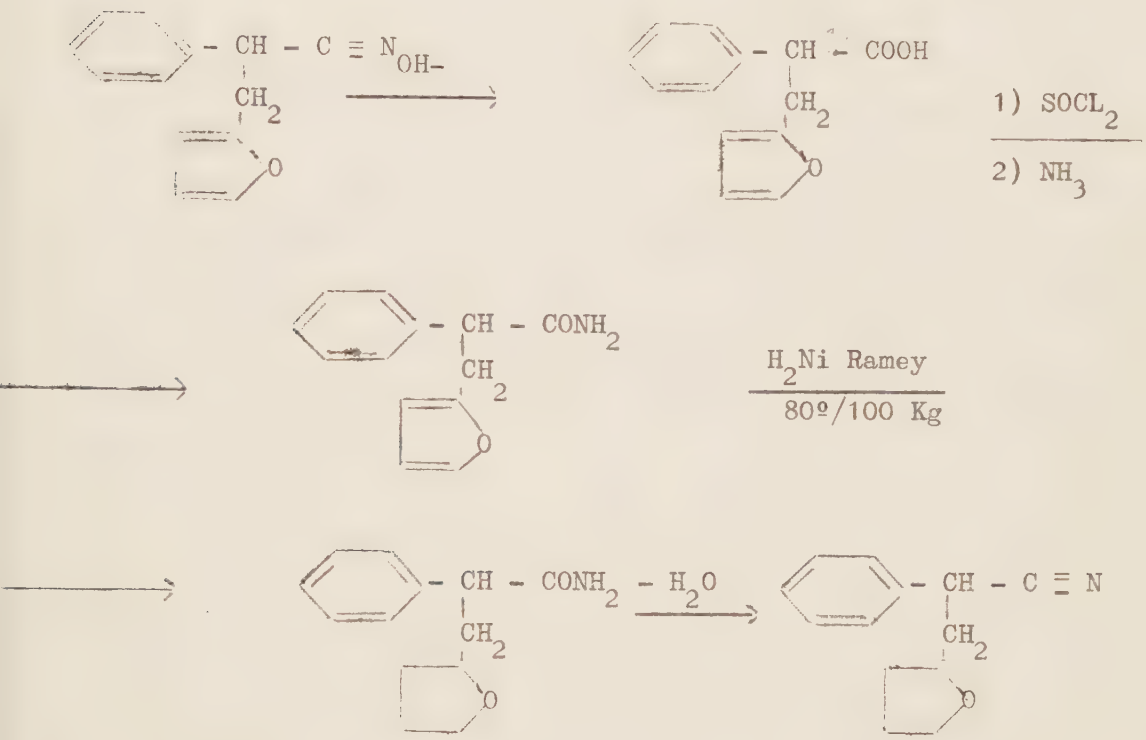
(VIII)

La proportion des deux dérivés (VII) et (VIII) dépend à la fois du catalyseur, des conditions du milieu et souvent de la nature des substituants R_1 et de sa position sur le noyau aromatique. Lorsque le noyau n'est pas substitué (R_1 = H), les deux composés (VII) et (VIII) se forment en proportion à peu près égales. Il est possible d'orienter la réaction vers la formation pratiquement exclusive du dérivé furfurylique par l'emploi du

... /...

charbon palladié partiellement inactivé par le thiophène (PESSON (102) (103).

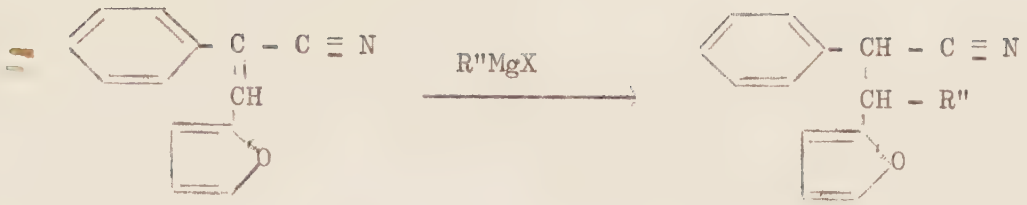
Le dérivé tétrahydrofurfuryl peut être obtenu à partir du furfuryl-idènylacétonitrile par les réactions suivantes:



Lorsque le noyau aromatique est porteur de substituants tels que des groupements méthoxy, l'hydrogénation des dérivés furfurylidéniques (VI) dans les conditions ordinaires, fournit en majorité (90-95 %) les composés tétrahydrofurfuryliques (VIII) qui peuvent être amenés à un degré de pureté suffisant par une distillation soignée. Ici encore, l'emploi de catalyseurs partiellement empoisonnés par le thiophène permet l'obtention des nitriles furfuryliques (VII).

Les nitriles (IX) ont été préparés par action des organomagnésiens sur les dérivés furfurylidéniques (VI). Cette réaction peut conduire, en principe, à un mélange de stéréoisomères. En fait, l'un des deux est toujours prépondérant et est isolé après distillation et recristallisation.

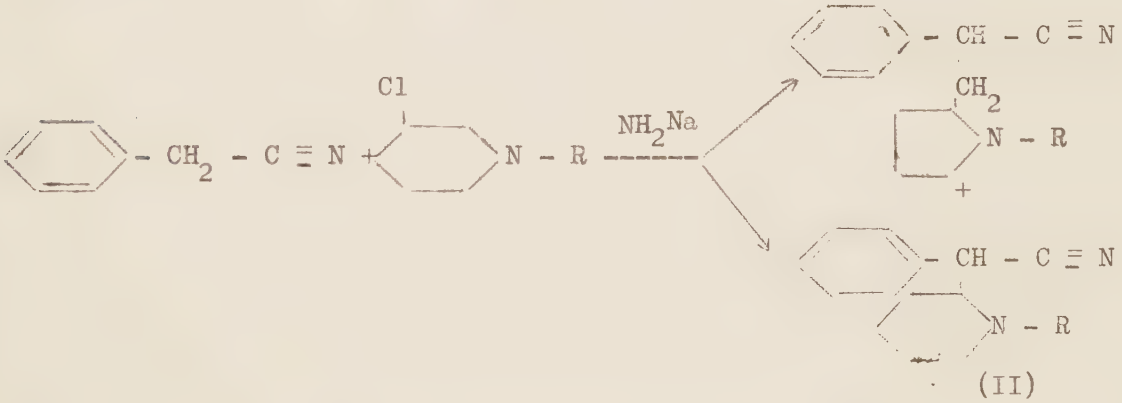
... / ...



(VI) (IX)

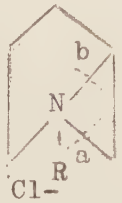
- Préparation des dérivés du deuxième groupe

Ces composés pourraient, en principe, être obtenus par condensation d'un phénylacétonitrile sodé avec une N-alkylchloro-3 pipéridine. En fait, l'étude de cette réaction dans le cas le plus simple a montré que, par suite d'une transposition déjà observée lors de réactions voisines, l'on obtient un mélange de dérivés pyrrolidylméthyl (I) et pipéridyl-3 (II) (PESSON (101).



(II)

Le mécanisme de la réaction est semblable à celui décrit pour la préparation des composés du Ier groupe, lors de l'alkylation par le diméthylamino-1-chloro-2 propane. Ici aussi, l'agent d'alkylation réagit sous forme d'un composé quaternaire (III), susceptible de conduire à deux carbocations:

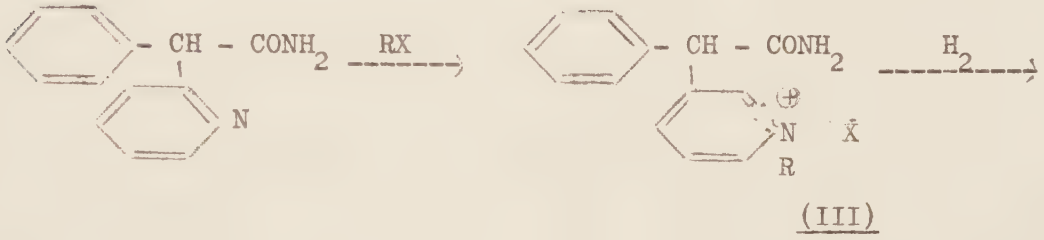


selon (a) -------- (I)

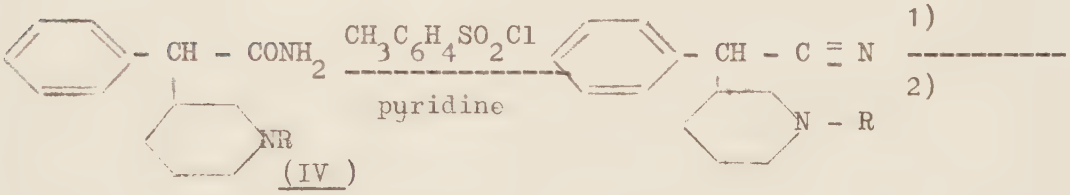
" (b) -------- (II)

... / ...

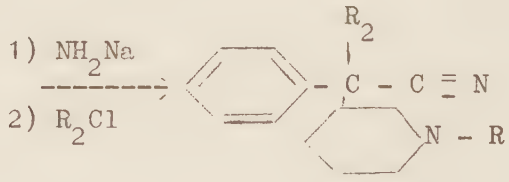
Les dérivés décrits ont pu être obtenus par les réactions suivantes: l'α pyridyl-3 α phénylacétamide, quaternisé par un halogénure d'alkyle fournit le sel de pyridinium (III) qui, hydrogéné par le platine en milieu acétique, conduit à un α (N alkyl pipéridyl-3) α phénylacétamide (IV) dont la déshydratation (pyridine + p. toluène sulfochlorure) donne le nitrile correspondant (V) qui est aisément alkylé par le procédé habituel (PESSON (101)).



(III)



(IV)



Les structures des différentes molécules synthétisées, auxquelles on a donné des numéros arbitraires, figurent dans les tableaux IV et V. Y figurent aussi, la DL 50 et l'activité antitussive de chaque composé.

... / ...

TRAVAUX PERSONNELS

TRAVAUX PERSONNELS

- RECHERCHE de l'ACTIVITE ANTITUSSIVE des MOLECULES de la SERIE

Ces composés ont été soumis à un "criblage" systématique de l'activité antitussive, qui a été précédé par l'étude de la toxicité aigue (détermination de la DL 50, par voie intra-veineuse chez la Souris). Ces deux paramètres ont été étudiés comme suit:

A - DETERMINATION de la TOXICITE AIGUE

Des lots de 10 souris mâles pesant de 18 à 22 g ont reçu, par voie intraveineuse, différentes doses des produits en solution dans le soluté isotonique de ClNa à 9 pour 1.000. Chaque dose a été injectée sous un volume de 0,5 ml par 20 g de poids corporel, dans la veine caudale, à la vitesse constante de 30" par 0,5 ml.

La DL 50 a été calculée pour chaque produit par la méthode graphique des probits ou la méthode de KARBER et BEHRENS (64), 72 heures après l'injection.

B - DETERMINATION de l'ACTIVITE ANTITUSSIVE

La recherche systématique de l'activité antitussive a été conduite en utilisant la technique de DOMENJOZ (31) que nous avons légèrement modifiée.

1 - Technique initiale de DOMENJOZ

DOMENJOZ utilise des chats anesthésiés au Numal, à la dose de 55 mg/Kg, injecté par voie intrapéritonéale. 45 minutes environ après l'anesthésie, le nerf laryngé supérieur est préparé. Celui-ci se situe dans la région du muscle thyroïdien; il est isolé avec précaution en évitant tout tiraillement.

... /...

L'électrode d'excitation est montée de façon mobile pour éviter une détérioration du nerf. Les paramètres de l'excitation sont les suivants:

- fréquence: 5 Hz
- intensité: 0,15 à 3 volts
- durée de l'excitation: 5 à 15 secondes

L'intervalle de temps entre deux excitations est de 60 à 180 secondes.

L'enregistrement est réalisé par l'intermédiaire d'une capsule de Marey, reliée à une canule trachéale introduite à partir du larynx par voie orale.

L'administration des substances se fait par voie intraveineuse sous un volume de 0,5 ml à la vitesse de 1 ml par minute.

2 - Technique de DOMENJOZ modifiée

Pour l'anesthésie nous avons choisi le pentobarbital (éthyl méthyl butyl malonylurée) couramment utilisé en pharmacologie. Celui-ci est le plus souvent utilisé à la dose de 32 mg/Kg par voie intrapéritonéale chez le Chien et le Chat. Cependant, cette dose est souvent trop forte et provoque une anesthésie durable et très profonde, puisqu'elle inhibe,chez 50 % des animaux environ, la réponse tussigène à l'excitation électrique réalisée selon les paramètres établis par DOMENJOZ, pendant un temps compris entre 1 et 2 heures. Pour éviter cette perte de temps qui diminue la durée de la période ex périmentale, nous avons cherché à établir une anesthésie moins profonde qui permet d'utiliser rapidement l'animal.

... / ...

Après avoir réalisé différents essais, nous avons mis au point une technique d'anesthésie en deux temps utilisant successivement le penthiobarbital (éthyl méthyl butyl thiomalonylurée) et le pentobarbital dans les conditions suivantes:

a) - Ière phase: penthiobarbital

20 mg/Kg injecté par voie intrapéritonéale provoquent une anesthésie d'induction rapide, profonde et d'une durée courte (15'±5), mais suffisante pour préparer l'animal comme il est indiqué plus haut (canulation de la carotide pour l'enregistrement de la pression artérielle, canulation d'une jugulaire externe pour réaliser les injections et préparation du verf laryngé.)

Dès que l'animal présente les premiers signes de réveil, on procède au 2ème temps de l'anesthésie au pentobarbital.

b) - 2ème phase: pentobarbital

Le réveil de l'animal étant quelquefois brutal et très rapide, une injection rapide d'une solution de pentobarbital à 25 % est réalisée en une ou deux minutes, qui suffit à réendormir l'animal. Elle est suivie, ensuite, d'une perfusion lente de la même solution à la vitesse de 0,01 ml par minute pendant toute la durée de l'expérimentation.

Nous avons vérifié que chez les animaux ainsi anesthésiés, les réponses tussigènes sont parfaitement constantes et reproductibles.

La suite de l'expérimentation est identique à la technique de DOMENJOZ. Cependant, après injection du produit inconnu, les excitations ont été réalisées aux temps suivants: 2', 5', 15', 30' et tous les

... / ...

1/4 d'heure jusqu'à la récupération totale de la réponse primitive si le produit est actif. Cela nous a permis, en réduisant le temps mort nécessaire à l'élimination d'une dose trop forte d'anesthésique,de réaliser un "criblage" rapide de l'activité antitussive, 4 ou 5 produits pouvaient être étudiés sur un seul animal.

En fin d'expérimentation, la sensibilité de la préparation était vérifiée par la détermination de la dose active de codéïne.

Tous les produits ont été étudiés sur trois animaux différents à une dose égale ou inférieure au 1/10 de la DL 50.

Les résultats expérimentaux figurant dans les tableaux ci-joints nous ont permis:

- d'une part, de tirer un certain nombre de conclusions quant à la relation entre la structure des molécules et leur activité antitussive.

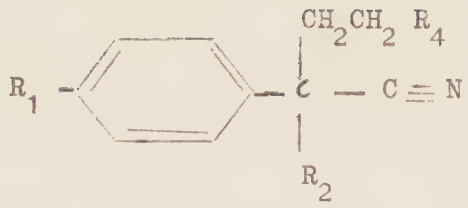
- d'autre part, de choisir parmi les composés les plus intéressants le 699, dont l'étude approfondie a montré qu'il était très actif, peu toxique, et dénué des actions secondaires que l'on reproche aux substances antitussives.

RELATION STRUCTURE-ACTIVITE des MOLECULES ETUDIES

Les résultats obtenus, lors de l'étude pharmacologique de cette série permet d'arriver aux conclusions suivantes:

- les composés actifs appartiennent tous au groupe des substances ayant l'azote lié à une chaîne carbonée linéaire; ils répondent donc à la formule globale suivante:

... / ...



- l'activité semble directement liée à la structure du substituant R_2 puisqu'elle n'apparaît que lorsque celui-ci est constitué par un noyau furyl ou tétrahydrofuryl, à l'exclusion de toutes les autres structures étudiées (benzyl, éthyl, pyrryl, ...).

Cette condition nécessaire n'est cependant pas suffisante puisqu'à l'intérieur de ces groupes l'activité varie avec les autres substituants à l'azote R_4:

- dans le groupe "furyl", l'activité est liée à la structure diméthylamine, la présence d'un substituant chloré ou méthylé en 3 ou 1 supprimant celle-ci. Les composés diéthylamine, pyrryl, pipéridine ou morpholone en 4 sont inactifs.

- dans le groupe "tétrahydrofuryl", le substituant en 4 peut être diméthylamine, diéthylamine, ou pipéridine. Cependant, les composés les plus intéressants sont diméthylamine. La présence d'un halogène en 1 sur le noyau phényl supprime cette activité (composé 681), et celle d'un groupement méthoxy ou éthoxy l'augmente, la position para de ce dernier étant la plus favorable. La présence d'un méthoxy en para semble particulièrement importante car le seul composé actif pipéridine en 4 possède ce substituant (composé 700).

... / ...

L'ensemble de ces considérations peuvent se résumer ainsi:

$N(CH_3)_2$ > $N(C_2H_5)_2$ > >

quant R_4 est égal à $N(CH_3)_2$, R_1 joue le rôle suivant:

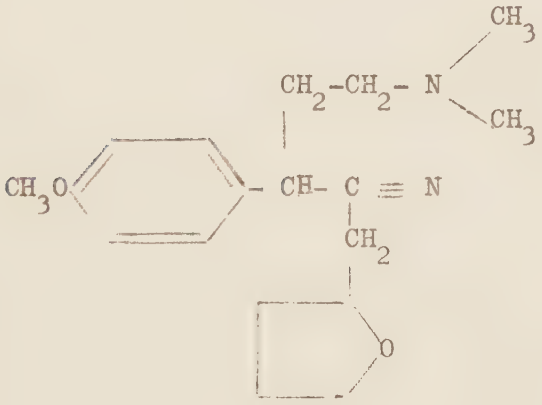
OCH_3 para > OC_2H_5 para > OCH_3 méta ou ortho > Cl.

Composé choisi pour son étude approfondie:

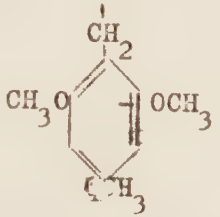
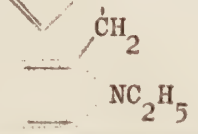
le composé le plus actif de cette série, le 699 a été choisi en vue d'étudier son mécanisme d'action.

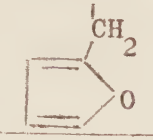
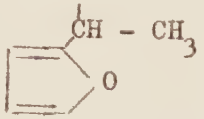
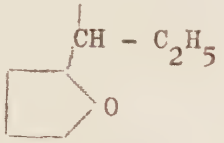
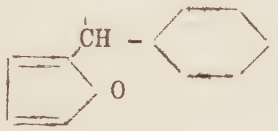
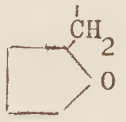
Il correspond au chlorhydrate de (tétrahydrofuryl-2') p. méthoxy-phényl-2 cyano-2 diméthylamino-4 butane.

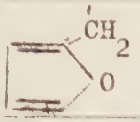
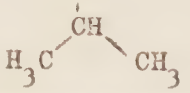
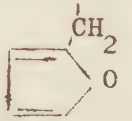
et correspond à la formule ci-après:

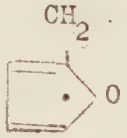
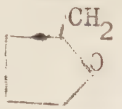
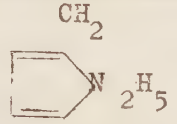


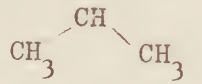
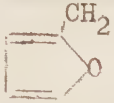
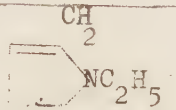
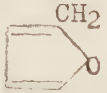
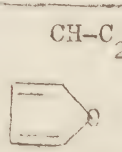
... / ...

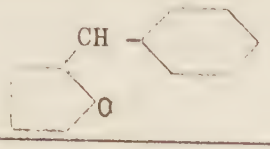
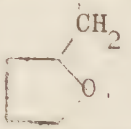
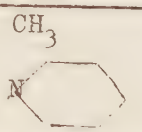
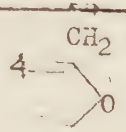
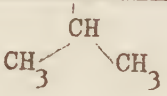
Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg/Kg	Doses anti-tussives seuil	DA / DL 50
665	H	CH_2	H	$N(CH_3)_2$	67	$\geq$ 6,7	
712	OCH_3	"	"	"	55	$\geq$ 5,5	
693	H		"	"	50	> 3	
679	"		"	"	40	> 4	0,06
666	"		"	"	35	> 3,5	
689			"	"	35	> 3,5	

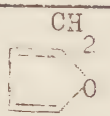
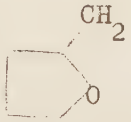
Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg /Kg	Doses anti-tussives seuil	DA / DL 50
649	H		H	$N(CH_3)_2$	55	2,5 ou 5	0,05-0,09
677	"		"	"	37	> 3,7	
667	"		"	"	35	> 3,5	
678	"		"	"	25	2,5	0,1
671	"		"	"	110	5 - 10	0,05-0,1
545	"	H	CH_3	$N(CH_3)_2$	75	5	0,06

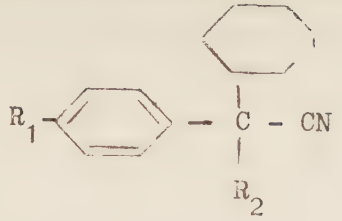
Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg /Kg	anti-tussives seuil	$\frac{DA}{DL\ 50}$
474	H		CH_3	$N(CH_3)_2$	70	> 7	
632	"		CH_3	"	40	> 4	
499	Cl	H	H	"	90	⩾ 20	
532	Cl		H	"	40	> 4	
507	Cl	" "	CH_3	"	50	⩾ 5	
506	Cl		H	"	25-30	> 2,5	
513	Cl	"	CH_3	"	25	> 2,5	
681	Cl		H	"	50	⩾ 5	
704	OCH_3	"	"	"	50	5	0,1

Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg/Kg	Doses anti-tussives seuil	$\frac{DA}{DL\ 50}$
758			H	$N(CH_3)_2$	50	5	
705	OCH_3(o)		"	"	67	5-10	0,07-0,14
725	OCH_3(m)	"	"	"	72	5	0,07
699	OCH_3(p)	"	"	"	100	5-2,5	0,05-0,025
709	OC_2H_5(p)	"	"	"	75	5-10	0,06-0,12
715		CH_2		"	45	5	
726	H		"	$N(C_2H_5)_2$	61	5-10	0,08-0,1
660	"		"	"	45	>4,5	
769	"		"	"	62	5	0,08

Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg/Kg	Doses anti-tussives seuil	$\frac{DA}{DL\ 50}$
491	H		H	$N(C_4H_9)_2$	30-40	> 4	
492	"		"	"	450 ( )	15	
524	Cl	H	"	"	40	> 4	
540	"		"	"	100	15	
687	H		"		38	> 4	
728	"		"		59	> 5,9	
659	"		"	"	40	> 4	
676	"		"	"	30	> 3	
673	"		"	"	35	> 3,5	

Nº	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50	Doses anti-tussives seuil	DA / DL 50
682			H		25	> 2,5	
672			"	"	67	> 6,7	
711	OCH_3 (o)	"	"	"	35	> 3,5	
700	OCH_3 (p)	"	"	"	60	5-10	0,08 0,16
710	OC_2H_5	"	"	"	55	> 5	
716		"	"	"	50	5	0,1
530	H		"		30	> 3	
664	"			"	95	10	0,1
563	H		H		75	7,5	

Nºs	R_1	R_2	R_3	R_4	DL 50 mg/Kg	Doses anti-tussives seuil	DA / DL 50
572	H		H		50-60	> 5	
564	"		"	"	65		
658	"		"	"	75	> 7,5	
770	"		"	"	225	> 22,5	
721		"	"	"	65	5	0,07



Nºs	R_1	R_2	R_3	DL 50 mg/Kg	Doses anti-tussives mg/Kg	$\frac{DA}{DL\ 50}$
558	H	$CH(CH_3)_2$	CH_3	75	10	0,13
514	"	H	C_2H_5	80	10	0,12
505	Cl	H	"	90	10	> 0,10
544	H		"	50	5	> 0,10
511	H		"	50	5	0,10

- ETUDE PHARMACOLOGIQUE du 699

A - DETERMINATION de la TOXICITE AIGUE

L'étude approfondie du 699 a été précédée d'une détermination de la dose léthale 50 par différentes voies chez la Souris. (Tableau VI)

La toxicité du phosphate de codéïne, que nous avons pris comme substance de référence dans différentes expériences, a été étudiée de la même façon simultanément. Les DL 50 ont été calculés par la méthode de KARBER (64).

Tableau VI

	DL 50 mg/Kg			
	Voie			
	I.V.	I.P.	S.C.	Orale
699	100	360	315	850
Codéïne	60	150	300	600

Le 699 est peu toxique puisque sa DL 50 atteint 100 mg/Kg, par voie intraveineuse; l'écart des DL 50 entre la voie intraveineuse et la voie orale est l'écart normal que l'on constate généralement pour les produits bien absorbés par le tube digestif.

B - ETUDE de l'ACTIVITE ANTITUSSIVE

Quatre techniques ont été mises en oeuvre pour étudier l'activité antitussive du 699. Elles nous ont permis, en faisant varier l'espèce animale, son état physiologique et le stimulus producteur de la toux, de conclure à l'activité du produit quelles que soient les modalités expérimentales et d'envisager son mécanisme d'action.

... / ...

Nous décrirons succesivement ces techniques qui peuvent se résumer ainsi:

- Animal anesthésié:
  - Technique de l'excitation électrique du nerf laryngé supérieur chez le Chat;
  - " " mécanique de la trachée du Cobaye;
- Animal éveillé ou décérébré:
  - Technique de l'excitation mécanique de la trachée du Chien éveillé;
  - " " " de la trachée du Cobaye décérébré.

ANIMAL ANESTHESIE -

1) - Technique de l'excitation électrique du nerf laryngé du Chat (technique de DOMENJOZ modifiée)

Cette technique que nous avons décrite précédemment a été reprise pour chiffrer avec plus de précision l'activité du 699 et la comparer à celle de la codéine.

L'activité antitussive de doses croissantes d'un produit actif se manifeste par un abaissement progressif de la force des accès de toux se traduisant sur le graphique par une diminution de la hauteur de l'enregistrement. La dose efficace 50, à un temps donné, est la dose qui inhibe de 50 % l'amplitude de la toux initiale. Celle-ci a été calculée par la méthode graphique des probits à partir des résultats de plusieurs expériences. Afin d'éviter des phénomènes d'accumulation, deux doses seulement ont été injectées à chaque animal et au moins une heure après le retour de la toux à son intensité initiale.

Les résultats figurent dans le tableau nº VII, et graphique nº 1 p. 76.

... / ...

Tableau VII

ACTIVITE ANTITUSSIVE du 699 par VOIE INTRAVEINEUSE

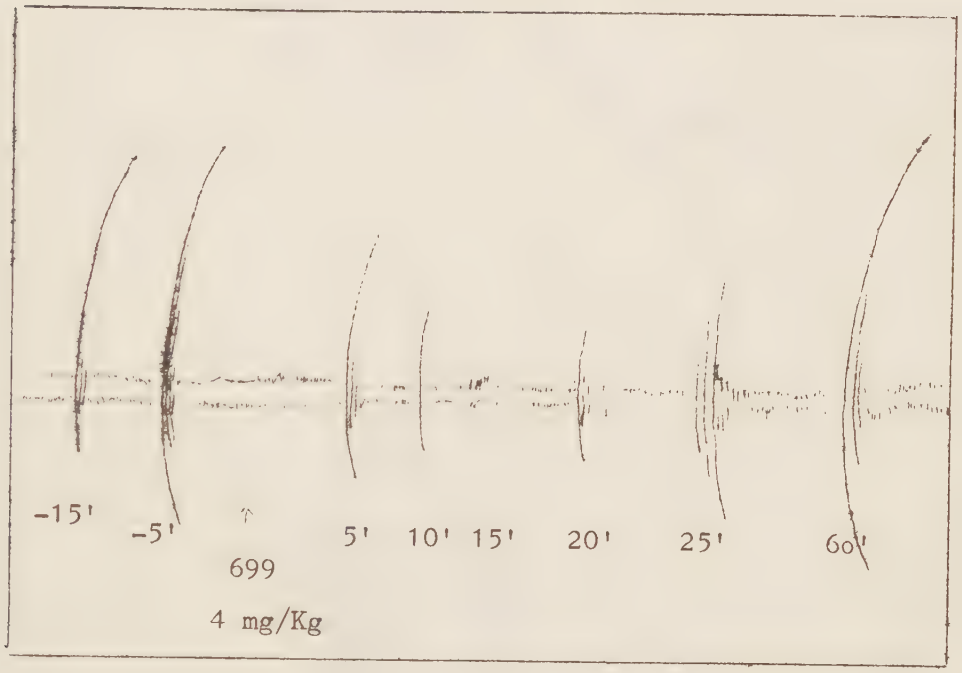
% d'INHIBITION de la TOUX INITIALE à DIVERS TEMPS

Doses mg/Kg	Nombre animaux	5'	10'	15'	20'	25'	30'
2	2	12	1 5	0			
3	3	33	43	35	30	0	
4	4	56	45,9	40	40	13	0
5	4	83,4	86	83	80	25	15
10	4	100	100	100	100	85	60
E 50		3,6	3,25	4	4,25	6	8,5
E 50 déïne		2	2	2	2	3	3

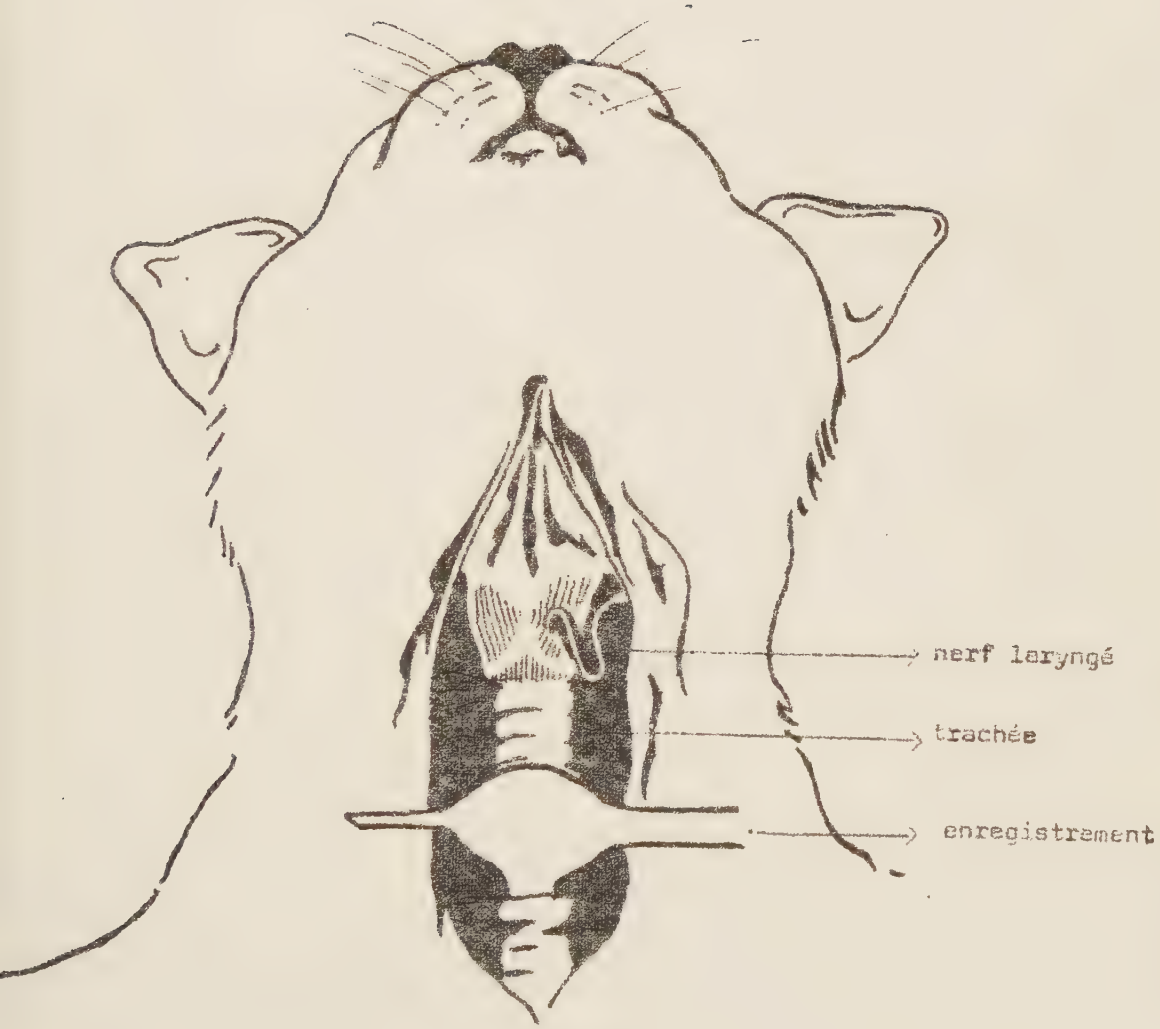
... / ...

Enregistrement de la toux

Technique de Domenjoz



CHAT PREPARE selon la TECHNIQUE de DOMENJOZ



2) - Technique de l'excitation mécanique de la trachée du Cobaye

Des cobayes maintenus en contention dorsale sont légèrement anesthésiés par inhalation d'éther. Après coupure du plan cutané, la trachée est dégagée et la toux est provoquée par l'introduction dans celle-ci d'un crin rigide long de 4 à 5 cm, auquel on imprime un mouvement de va et vient. Chaque mouvement est immédiatement suivi d'un accès de toux très bref, et est répété 10 fois de suite à 5 secondes d'intervalle.

On élimine les animaux qui répondent moins de 10 fois. Le produit est injecté par voie intra-veineuse dans une veine jugulaire sous un faible volume et les excitations sont répétées aux temps: 5, 10, 15, 30, 45 et 60 minutes. L'activité antitussive se manifeste par une diminution des nombres d'accès de toux.

Des lots de 10 animaux ont reçu différentes doses de 699. On a calculé, à chaque temps, le pourcentage moyen d'inhibition de la toux et d'après ceux-ci, la dose efficace 50, c'est-à-dire la dose qui provoque une inhibition de 50 % du nombre d'accès de toux.

Les résultats figurent dans le tableau suivant, nº VIII.

ANIMAL EVEILLE ou DECEREBRE -

Après avoir étudié l'action antitussive du 699 sur l'animal légèrement anesthésié, il était intéressant d'utiliser des animaux éveillés afin d'éviter la potentialisation éventuelle de l'activité antitussive du produit par l'anesthésique et de se placer dans des conditions voisines de celles de l'utilisation thérapeutique de ce produit.

... / ...

Tableau VIII

EXCITATION MECANIQUE de la TRACHEE du COBAYE

Pourcentage d'inhibition de la toux

Temps minutes	Doses mg/Kg		
	2,5	5	10
5	18	46	69
10	20	60	85
15	7	62	100
30	0	8	78
45	0	0	49
60	0	0	16

15' après l'administration du produit, la dose efficace 50 est peu différente de 4,5 mg/Kg.

... / ...

Nous avons réalisé sur le Chien la technique décrite par TEDESCHI (144).

1) - Technique de TEDESCHI utilisant le Chien éveillé

Principe:

Cette méthode consiste à provoquer une excitation mécanique de la trachée du Chien par les vibrations d'un morceau de fer doux maintenu dans la lumière de la trachée et stimulé par un électro-aimant.

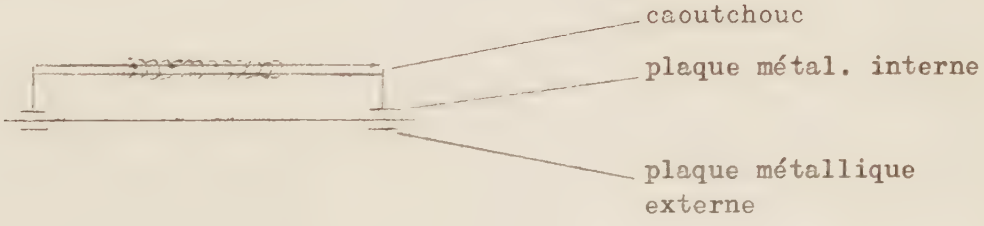
Technique opératoire:

Matériel:

Un ressort de fer doux long de 15 mm est traversé par un caoutchouc de diamètre égal au diamètre interne du ressort. Le caoutchouc est suspendu dans la trachée et fixé à deux plaques métalliques inoxydables cousues à la paroi de la trachée.

Opération proprement dite:

Des chiens de 10 à 15 Kg sont anesthésiés par 30 mg/Kg de pentobarbital sodique injectés par voie intraveineuse. La trachée est dégagée et incisée transversalement entre deux anneaux cartilagineux à 2 cm au-dessus du cartilage cricoïde. Une seconde incision transversale est réalisée à 6 cm de la première. Le ressort est introduit dans la trachée et le caoutchouc qui le traverse est fixé à ses deux extrémités à deux plaques métalliques à l'aide de fil d'argent.



... / ...

Une plaque métallique, fixée à l'extérieur de la trachée et reliée à la plaque interne assure une meilleure fixité de l'ensemble.

Le plan musculaire et la peau sont suturés.

L'animal, traité 3 jours de suite par 1 million d'unités de pénicilline par voie intra-musculaire, est utilisable 2 semaines environ après l'opération.

La toux est le résultat de la stimulation mécanique des récepteurs sensibles de la trachée par la vibration de l'élément de fer doux contre la paroi interne de la trachée. La vibration est obtenue par l'approche d'un électro-aimant.

La toux est obtenue par une série d'excitations courtes (2 à 3 "), r épétées 10 fois.

Nous avons remarqué, comme TEDESCHI, qu'il y a une certaine latence entre le moment de l'application du stimulus et la réponse tussive. Cet auteur l'explique par le fait qu'un certain nombre de terminaisons nerveuses doivent être stimulées pour produire une toux perceptible ou par la possibilité de libération d'une substance "neuronale" à l'extrêmité des terminaisons sensibles. La latence serait dûe, alors, à l'accumulation progressive de cette substance jusqu'au seuil efficace pour produire la toux.

Résultats:

Quatre chiens ont été opérés suivant cette technique. Ils ont reçu le 699 et la codéïne, administrés par voie orale, à l'aide d'une sonde gastrique, les animaux étant à jeûn. Plusieurs doses ont été expérimentées sur le même animal à raison d'une administration tous les dix jours.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant, nº IX. Ils sont exprimés en nombre moyen d'accès de toux notés avant et après administration du produit.

... / ...

Tableau IX

ACTIVITE ANTITUSSIVE chez le CHIEN

Technique de TEDESCHI

Produit	Doses mg/Kg	Temps minutes	Nombre moyen accès toux	Protection par rapport à la toux de la période témoin
699	25	0	10	20
		30	8	
		60	10	
	50	0	10	
		30	4	60
		60	1	90
		90	0	100
		120	8	20
Codéïne	5	0	8	
		30	8	
	10	30	6-8	vomissements
		60	8	
	20	0	6	"
		30	0	100
		60	0	100
		90	0	100
		120	10	

... / ...

D'après celui-ci, on constate que le 699 est très légèrement actif à la dose de 25 mg/Kg, mais possède une activité nette à 50 mg/Kg d'une durée de 90 minutes.

Le comportement des animaux a été normal et aucun vomissement consécutif à l'administration du produit n'a été noté.

La codéïne est active à la dose de 20 mg/Kg, mais contrairement à ce qu'indique TEDESCHI, nous n'avons pu obtenir une activité à doses inférieures. (Selon cet auteur, 8 mg/Kg provoque 56 % d'inhibition des accès de toux). Il faut noter aussi que dès 10 mg/Kg, des vomissements ont lieu chez 50 % des animaux peu après le gavage, ce qui expliquerait l'absence d'activité, une partie du produit étant rejetée. A 20 mg/Kg, tous les animaux ont vomi dans le quart d'heure qui a suivi le gavage.

2) - Technique utilisant le Cobaye décérébré

Les méthodes de production de la toux sur les animaux décérébrés permettent, elles-aussi, d'éliminer l'anesthésie. GREEN et WARD l'ont appliquée au Chat (49) et LEMEIGNAN STREICHENBERGER et LECHAT l'utilisent chez le Cobaye (84).

Protocole expérimental:

On utilise des cobayes mâles ou femelles de 350 à 500 grammes.

Après une légère anesthésie à l'Halothane, l'animal est scalpé et l'os est mis à nu. La boîte crânienne est ouverte à l'aide d'une pince sur une ligne médiane à 1 mm en avant de la suture pariéto-occipitale. Un bistouri est introduit en avant du sinus transverse, perpendiculairement à la surface de la boîte crânienne; le tronc cérébral est sectionné par un mouvement de va et vient de la lame. La section passe ainsi entre les tubercules quadrijumeaux, l'animal peut donc respirer spontanément. Il présente l'hypertonie et l'hyperreflectivité caractéristiques de la décérébration.

... / ...

Le stimulus tussigène est obtenu par l'attouchement de la carène à l'aide d'un crin rigide. La toux est enregistrée à l'aide d'une canule en polyéthylène placée dans la trachée et reliée à un tambour de Marey. Entre les accès de toux, le cathéter est retiré pour permettre à l'animal de respirer librement. Le produit a été administré par voie intraveineuse dans la jugulaire externe.

Résultats:

Le phénomène observé consiste en une expiration violente précédée d'un certain nombre de spasmes, comme le montre le tracé d'enregistrement.

Quelle que soit la dose utilisée, l'activité se situe seulement sur la phase d'expiration sans jamais supprimer les spasmes.

D'après les résultats figurant dans le tableau X, on peut voit que le 699 présente une activité supérieure et plus prolongée que la codéïne.

Dans cette technique, l'action ne pouvant être dûe qu'à une atteinte au niveau respiratoire, les hémisphères cérébraux étant supprimés, il semble donc que l'on puisse conclure à une activité plus spécifique du 699 au niveau de ces formations; l'activité antitussive de la codéïne est probablement la résultante d'une action au niveau des centres respiratoires associée à une action dépressive centrale supérieure, non spécifique, puisque dans cette technique, les doses efficaces de codéïne sont beaucoup plus grandes que les doses actives utilisées dans les techniques classiques.

... / ...

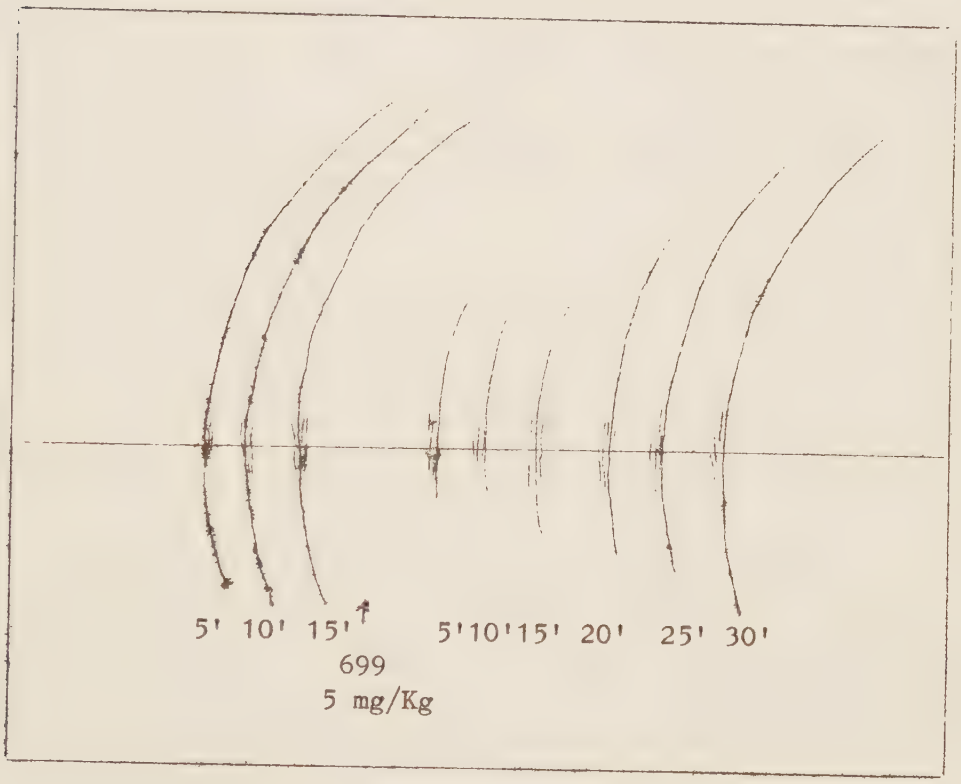
Tableau X

Produit	Doses mg /Kg	Activité antitussive	Durée d'action
699	5	nulle	
	7,5	variable selon les animaux diminution de 40 à 60 %	15 à 30'
	10	" de 80 à 100 %	30 à 60'
Codéïne	10	variable diminution de 20 à 40 %	15'
	20	" de 50 à 100 %	20 à 30'

... / ...

Enregistrement de la toux

Technique d'excitation mécanique de la trachée de Cobaye



C - ETUDE des PROPRIETES pouvant INTERFERER avec l'ACTIVITE ANTITUSSIVE

Après avoir étudié l'activité antitussive du 699, nous avons étudié un certain nombre de propriétés pharmacologiques pouvant intervenir dans cette activité et de ce fait l'expliquer.

Nous avons vu, en effet, qu'une action antitussive peut être la résultante d'une atteinte des terminaisons sensibles ou des trajets afférents du réflexe en jeu par un phénomène d'anesthésie locale ou par une spasmolyse des fibres lisses bronchiques. Dans ce cas, le mécanisme d'action est périphérique. Elle peut être aussi le fait d'une dépression aspécifique des centres nerveux supérieurs. C'est pourquoi, nous avons successivement recherché ces activités par:

- l'étude de l'activité anesthésique locale, de surface et d'infiltration;
- l'étude de l'activité spasmolytique;
- " " dépressive centrale.

1) - Etude de l'activité anesthésique locale

Aucune activité anesthésique locale n'a été mise en évidence tant dans la technique de REGNIER (anesthésie de surface) que dans la technique de BULBERING WAJDA (anesthésie d'infiltration) pour des concentrations variant de 0,5 à 5 %.

2) - Etude de l'activité sur la fibre lisse

L'activité du 699 sur la fibre lisse a été étudiée, in vitro, selon la méthode classique de Magnus, sur le duodenum de Rat et l'iléon de Cobaye. On a recherché l'antagonisme de ce produit, vis-à-vis des contracturants, acétylcholine, chlorure de baryum et histamine.

... / ...

On a calculé, en cas de réponse positive, la concentration qui inhibe de 50 % l'agent contracturant (tableau XI).

Tableau XI

Organe	Contracturant	Concentration efficace 50%	Antagonistes types concentration efficace 50
Duodenum de Rat	acétylcholine	6×10^{-6}	Atropine: 10^{-8} à 10^{-9}
	chlorure de baryum	2×10^{-6}	Papavérine: 10^{-6}
Iléon de Cobaye	histamine	5×10^{-5}	Prométhazine: 10^{-8} à 10^{-9}

Comme on peut le voir, le 699 possède une activité spasmolytique vis-à-vis du chlorure de baryum à une concentration double de celle de la papavérine, mais aucune activité vis-à-vis de l'acétylcholine et de l'histamine à des concentrations très supérieures à celles de leurs antagonistes spécifiques.

3) - Etude de l'activité dépressive centrale

On a recherché successivement, d'une part, les activités anticonvulsivante, hypothermisante et renforçante de l'hypnose qui reflètent une composante dépressive peu spécifique, et d'autre part, les modifications des facteurs psychiques et neuromusculaires mises en évidence par les épreuves classiques de la tige tournante, de la planche percée et de la cheminée.

.../ ...

- Activité anticonvulsivante:

A la dose de 40 mg/Kg (1/10 de la DL 50), le 699 administré, par voie intrapéritonéale, à des souris, une demi-heure avant la dose minimum 100 % mortelle de strychnine,d'une part,et de pentetrazol, d'autre part, n'abaisse pas la toxicité de ces deux convulsivants.

- Action sur la température centrale du Rat:

Des lots de 6 rats sont placés dans une pièce à température constante, plusieurs heures avant l'expérimentation. La température corporelle est prise à l'aide de sondes rectales 2 et 1 heure avant l'administration du produit, puis toutes les demi-heures pendant 2 heures après l'injection du 699. Aux doses de 20 et 40 mg/Kg, aucune variation significative de température par rapport à celle d'un lot témoin n'a été observée.

- Action renforçatrice de l'hypnose

Les dépresseurs centraux possèdent la capacité de renforcer l'hypnose chez les animaux ou de permettre un réendormissement s'ils sont injectés dès le réveil. Nous avons préféré cette technique car certains produits bloquant au niveau hépatique les réactions enzymatiques de dégradation des hypnotiques sont capables de prolonger le sommeil sans avoir une action centrale. On évite toute confusion en faisant agir le produit dès le réveil de l'animal, au moment où la presque totalité de l'hypnotique est éliminée.

Technique:

Le sommeil est provoqué par l'injection de 75 mg/Kg d'hexobarbital par voie intrapéritonéale à 4 lotsde 10 souris. On note la durée de l'hypnose et on injecte, dès le réveil, le produit à étudier, par voie intrapéritonéale. On observe s'il y a un réendormissement, et on note sa durée.

... / ...

Une durée moyenne de réendormissement inférieure ou égale à la moitié de la durée du sommeil initial est considérée comme étant la preuve d'une faible action dépressive d'autant plus importante que le chiffre est plus grand.

Le 699 et le phosphate de codéïne ont été administrés à des doses représentant le dixième et le vingtième de leur DL 50 respective.

- Résultats:

Les résultats obtenus montrent que le 699 provoque un réendormissement de durée moyenne et constante quelle que soit la dose, alors que la codéïne a une activité plus nette et croissante avec la dose (tableau XII).

ACTION du 699 et de la CODEÏNE sur le REENDORMISSEMENT de la SOURIS

	699		Codéïne	
	mg/Kg		mg/Kg	
	20	40	7,5	15
Ier sommeil dû à l'hexobarbital seul	24'	22'	18'	11'
2ème sommeil après produit	9'	11'	11'	22'

... / ...

- Activité sur le tonus et la coordination motrice

Le 699 a été soumis à trois épreuves de psychopharmacologie capables de montrer des modifications de facteurs psychiques et neuromusculaires: épreuve de la tige tournante, de la planche percée et de la cheminée décrite par BOISSIER (10 bis) que nous résumerons brièvement.

- Tige tournante

Des souris normales placées sur une tige tournante à une vitesse déterminée peuvent s'y maintenir pendant au moins 3'. Après administration de dépresseurs centraux et neuromusculaires, l'animal tombe rapidement.

Le 699, administré à 20 et 40 mg/Kg, par voie intrapéritonéale, n'a pas modifié le temps de maintien des animaux sur la tige, mesuré toutes les demi-heures et pendant 2 heures et demi après l'administration.

- Planche percée

Des souris placées sur une planche percée de trous régulièrement espacés, ont un comportement de curiosité et explorent les trous. On compte le nombre d'explorations effectuées par chaque animal d'un lot témoin, puis d'un lot traité au bout de 1,2,3,4 et 5' de séjour sur la planche. Des lots de 5 animaux ont été utilisés.

Les résultats figurent dans le tableau suivant XIII.

- Cheminée

Des souris placées dans un tube de verre étroit remontent la cheminée à reculons en moins de 30 secondes. On détermine 30 minutes après le traitement, le nombre de souris capables d'effectuer cette performance. Des lots de 10 souris ont été utilisés. (tableau XIII)

... / ...

Tableau XIII

Traitement	Nombre moyen d'explorations					Total	% de variation et p.
	Ière m.	2ème	3ème	4ème	5ème		
Témoins	6	5	6	5	4	26	
699: 40 mg/Kg 1/10 DL 50	7	7	5	6	5	30	+ 15 % 0,90
Témoins	5	5	4	4	5	23	
699 80 mg/Kg 1/5 DL 50	7	6	5	5	4	27	+ 17 % 0,90

Tableau XIV

Epreuve de la cheminée

Traitement	Pourcentage de souris effectuant la remontée en moins de 30"
Témoin	60
699: 40 mg/Kg	80
Témoin	100
699: 80 mg/Kg	100

... / ...

- Conclusion:

Les trois épreuves décrites ci-dessus, appliquées à des animaux traités par de fortes doses de 699, allant du vingtième au cinquième de la DL 50 par voie intrapéritonéale, nous a permis de conclure que le produit ne modifie pas les facteurs psychiques de l'animal concrétisés par des réactions de curiosité, de frayeur ou de fuite et ne présente pas de propriétés relaxantes neuromusculaires, d'origine centrale ou périphérique.

D - ETUDE des EFFETS SECONDAIRES

1) - Action dépressive respiratoire

- Technique:

L'action du 699 sur la respiration a été étudiée chez le Lapin non anesthésié dont on a enregistré le rythme et l'amplitude respiratoire au moyen d'un masque relié à un tambour de Marey. Le produit a été injecté par voie intraveineuse. L'enregistrement a été poursuivi pendant une heure ; on a calculé les variations de deux paramètres aux temps de: 5, 10, 15, 30, 45 et 60 minutes après l'injection du produit, par rapport aux chiffres normaux relevés 30' environ après la pose du masque, et qui correspond à la stabilisation du tracé.

- Résultats:

Sur différents animaux, 2, 5, 10, 15 et 20 mg/Kg de 699 ont été administrés. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux provenant d'une expérimentation semblable avec la codéïne administrée aux doses de 2 et 5 mg/Kg. Le tableau XV et le graphique 2 montrent que le 699 ne provoque aucune modification de la respiration aux doses de 2 et 5 mg/Kg, une

... / ...

légère diminution du rythme, de courte durée, apparaît à 10 mg/Kg, dose très supérieure à la dose antitussive 50 déterminée précédemment; cette diminution s'accentue pour les doses de 15 et 20 mg/Kg. A l'inverse, une activité dépressive importante, tant sur le rythme que sur l'amplitude, apparaît dès l'injection de 2 mg/Kg de codéïne qui représente la dose efficace 50 antitussive. Elle s'accentue pour la dose de 5 mg/Kg. A ces deux doses, la dépression respiratoire est quantitativement supérieure à celle observée avec 15 et 20 mg/Kg de 699 et d'une durée supérieure à 1 heure. Ces résultats montrent l'intérêt du 699 par rapport à la codéïne, puisque la dépression respiratoire, conséquence inévitable de l'activité antitussive, n'apparaît qu'à des doses très supérieures aux doses permettant de diminuer ou même de supprimer la toux expérimentale.

... / ...

Tableau XV

Action sur la respiration chez le Lapin

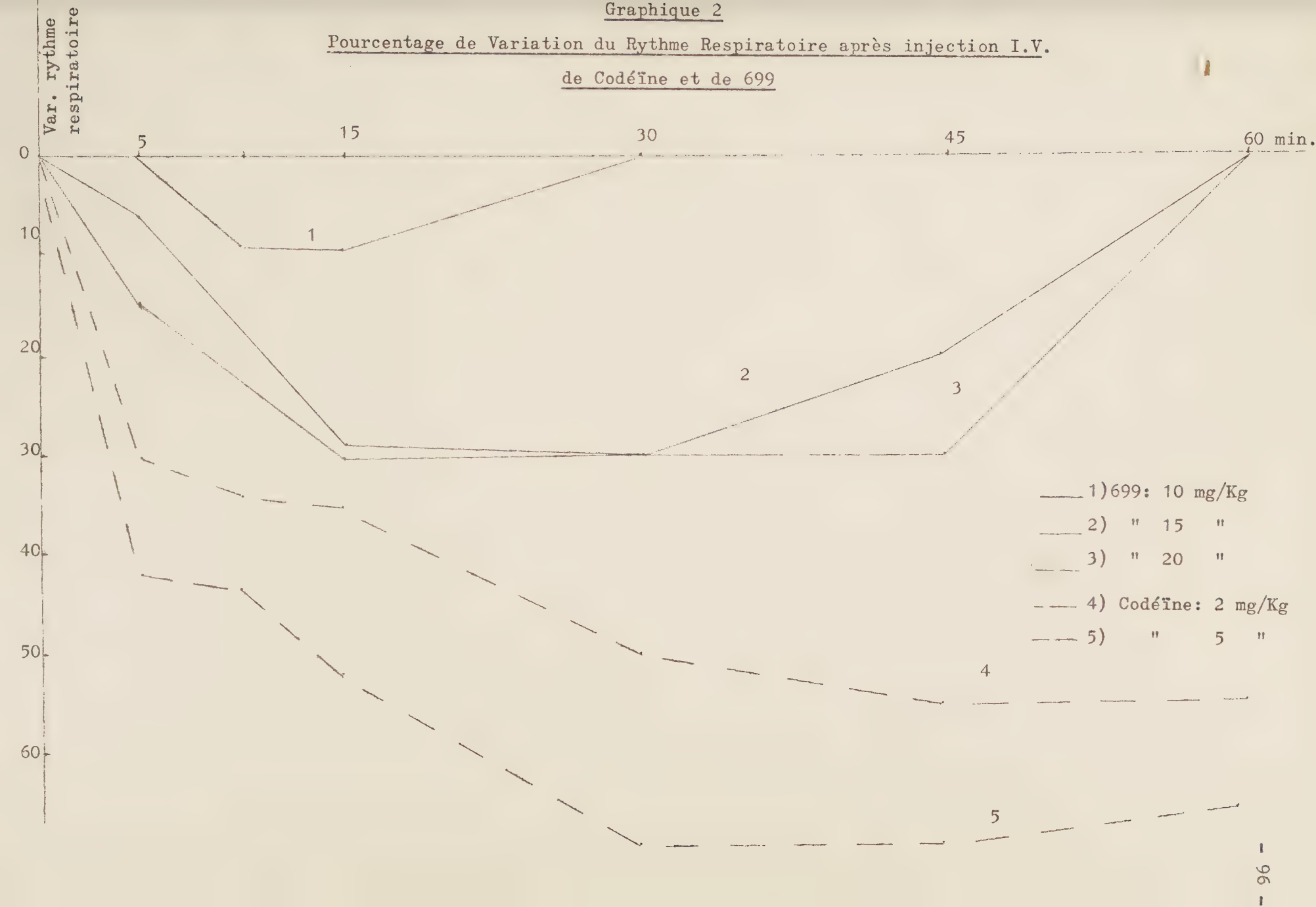
Produit	Doses mg/Kg	Temps après injection en minutes	% variation rythme	Temps du retour à la normale en minutes	Variation amplitude
699	2	5 à 60	0		
	5	5	- 7		
		10	- 7		inchangée
		15	+ 3		
		30	- 5		
		45	- 5		
	10	5	0		
		10	- 9		"
		15	9		
		30	0	30	
	15	5	- 6		
		15	- 28		diminution
		30	- 30		de 10 à 15 %
		45	- 20		
		60	0	60	
	20	5	- 15		
		15	- 30		diminution
		30	- 30		de 20 à 30 %
		45	- 30		
		60	0	60	
CODEÏNE	1	5 à 60	0		
	2	5	- 30		
		10	- 34		
		15	- 35		diminution
		30	- 50		de 25 à 30 %
		45	- 55		
		60	- 55	60	
	5	5	- 42		
		10	- 43		
		15	- 52		diminution
		30	- 68		de 40 à 60 %
		45	- 68		
		60	- 65	60	

... / ...

Graphique 2

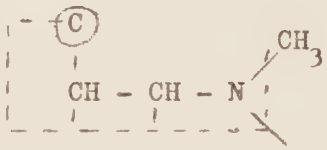
Pourcentage de Variation du Rythme Respiratoire après injection I.V.

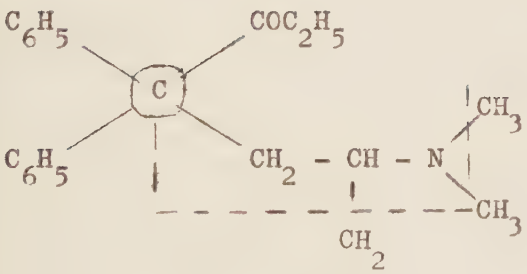
de Codéïne et de 699



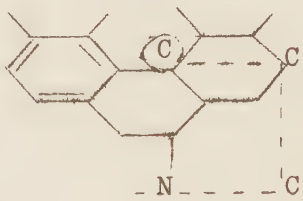
2) - Activité analgésique

L'activité analgésique du 699 était d'autant plus intéressante à rechercher qu'elle pouvait être prévisible d'après sa structure chimique. Nous avons vu, en effet, que ce produit et tous ceux de la série à laquelle il appartient pouvaient être apparentés à la Méthadone. Avec celle-ci et avec les dérivés morphiniques, le 699 possède l'enchaînement atomique caractéristique, support de leur activité analgésique et qui comporte un azote tertiaire en position γ par rapport à un carbone quaternaire.

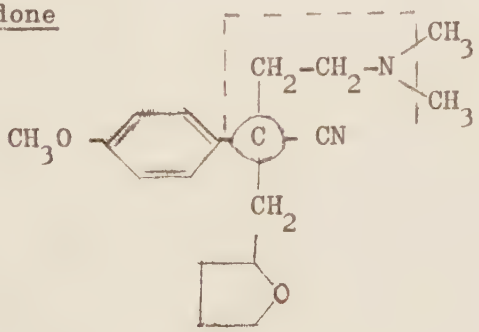




Méthadone



Morphine



699

L'activité analgésique du 699 a été recherchée à l'aide de deux techniques: l'une décelant une analgésie de type narcotique: technique de la plaque chauffante; l'autre pouvant mettre en évidence une analgésie plus faible telle qu'elle se trouve dans le groupe des "analgésiques antipyrétiques anti-inflammatoires": technique de Siegmund.

a) - Technique de la plaque chauffante

(WOOLFE MAC DONALD (157)) modifiée par EDDY LEIMBACH (34)

Des souris placées sur une plaque chauffante métallique chauffée à 55-56º répondent en quelques secondes au stimulus thermique douloureux par un saut ou un lêchement des pattes antérieures. Le temps moyen de réaction d'un lot de 10 souris est déterminé 15 minutes avant l'administration du produit à étudier puis à 15, 30, et 60 minutes après l'administration du produit.

Le pourcentage d'analgésie est calculé par la formule suivante:

$$\% = \frac{T - t \times 100}{15 - t}$$

formule dans laquelle:

t = temps moyen avant le produit,

T = " " après " "

15 = " considéré comme reflètant une analgésie totale.

Les résultats obtenus avec le 699 injecté par voie intrapéritonéale ont été comparés à ceux obtenus avec les doses équivalentes de Codéïne, par rapport à la toxicité aigue. Ils figurent dans le tableau suivant (nº XVI).

... / ...

Tableau XVI

ACTIVITE ANALGESIQUE EXPRIMEE en POURCENTAGE d'ANALGESIE

Produit	Doses mg/Kg	Rapport par rapport à la DL 50	15'	30'	60'
699	20	# 1/20	0	0	0
	40	# 1/10	0	0	0
Codéïne	7,5	=# 1/20	22	15	0
	15	#= 1/10	49	53	42

b) - Technique de SIEGMUND

Après s'être assuré que le 699 ne présentait aucune activité analgésique de type narcotique, nous avons vérifié qu'il ne présentait pas non plus une activité plus faible décelable par la technique décrite par SIEGMUND (131).

Elle consiste à provoquer une réaction douloureuse par injection intra-péritonéale de 2-phényl- 1,4-benzoquinone en solution faiblement alcoolique (0,02 %). Chaque souris reçoit 0,25 ml de cette solution. Dès l'injection, elles présentent une torsion caractéristique du train postérieur. Les animaux sont observés pendant 20 minutes durant lesquelles on compte le nombre total de torsions. Après administration d'un analgésique, il y a une protection totale ou partielle du phénomène calculée ainsi:

$$\% \text{ protection} = 100 - \left(\frac{\text{nombre de torsions du lot traité}}{\text{nombre de torsions du lot témoin}} \times 100 \right)$$

... / ...

Un lot témoin ne reçoit que la substance algogène; les lots traités ont reçu le produit 30 et 60 minutes avant, par voie orale.

Les résultats obtenus avec le 699 et la Codéïne sont inscrits dans le tableau suivant (nº XVII)

Produit	Doses mg/Kg	Rapport avec DL 50	% de protection par rapport aux témoins	
			30 mn avant	60' avant
699	40	1/20	0	0
	80	1/10	. 0	0
Codéïne	20	1/30	67	-
	40	1/15	82	72

- Conclusion

Les résultats précédents nous montrent que le 699 est dénué d'activité analgésique quelle que soit la technique utilisée pour déceler cette activité.

3) - Recherche d'une activité contracturante de la fibre lisse, in vivo

L'étude d'une activité contracturante sur la fibre lisse in vivo a été entr eprise directement au niveau de la musculature lisse bronchique et indirectement au niveau intestinal en recherchant une éventuelle action constipante.

... / ...

- Etude du tonus bronchique chez le Cobaye: technique de KONZETT (75)

Des cobayes de 400 à 500 g sont anesthésiés par 1 g/Kg d'uréthane. On place dans la trachée une canule en verre à trois branches. L'animal est placé en respiration artificielle et subit un double pneumothorax. Par un système de valve à mercure, on enregistre un excès d'air envoyé à l'animal. Toute bronchoconstriction diminuant l'admission d'air se manifeste par une augmentation de l'excès et le phénomène est enregistré à l'aide d'un tambour de Marey (schéma p. 102).

Le 699 et la codéïne ont été injectés par voie intraveineuse dans une jugulaire. Des spasmes témoins ont été obtenus par injection de 50 mcg par Kg d'acétylcholine.

On a comparé l'effet du 699 à celui de la codéïne. On a recherché l'action directe sur la préparation et l'action protectrice vis-à-vis de l'acétylcholine, les produits étant administrés quelques minutes avant celle-ci.

La dose de 699 et de Codéïne ainsi que leur actions sont consignées dans le tableau suivant (nº XVIII) et illustrées par les graphiques des pages 103 et 104.

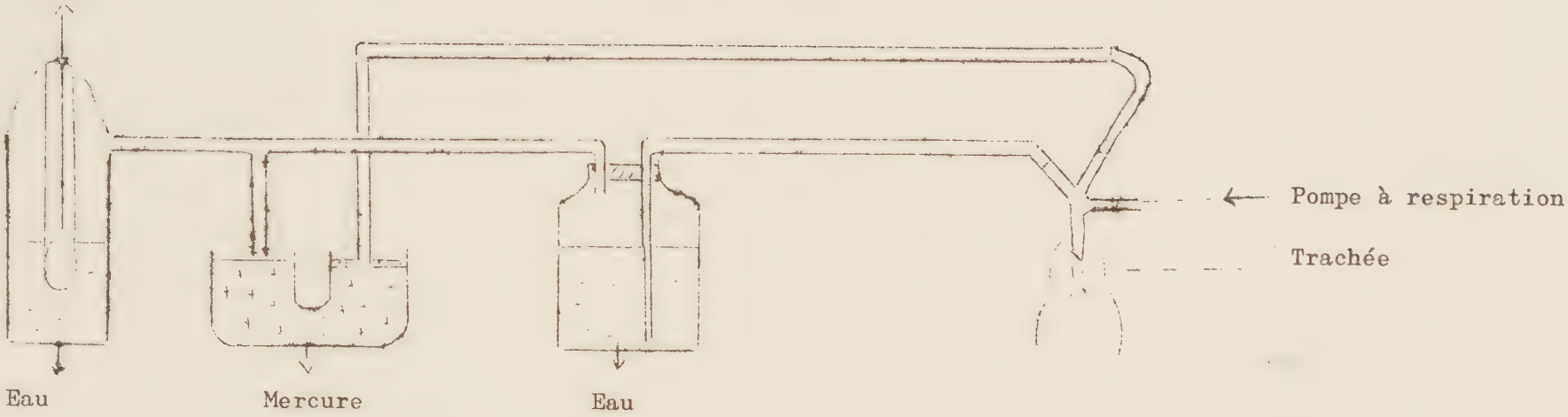
Tableau XVIII

Produit	Doses mg/Kg	Effet direct	Effet protecteur vis-à-vis de l' acétylcholine
699	5	0	protection partielle
	10	0	" "
	20	0	" totale
	40	0	" "
Codéïne	2	0	0
	4	0	0
	8	0	0
	16	broncho-constriction	

... / ...

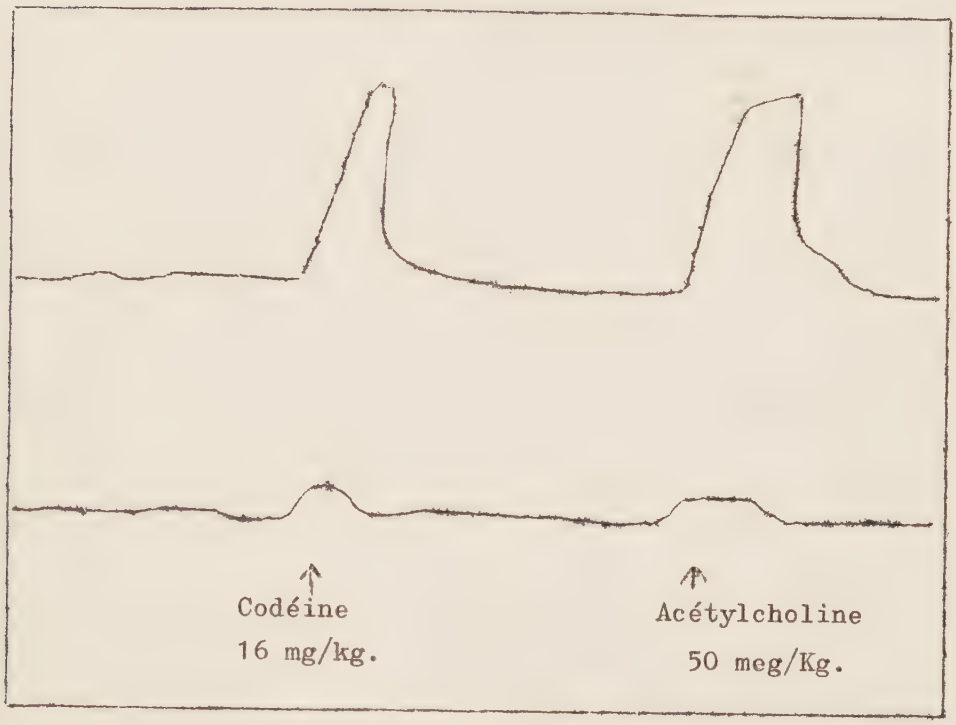
DISPOSITIF EXPERIMENTAL UTILISE dans la TECHNIQUE de KONZETT

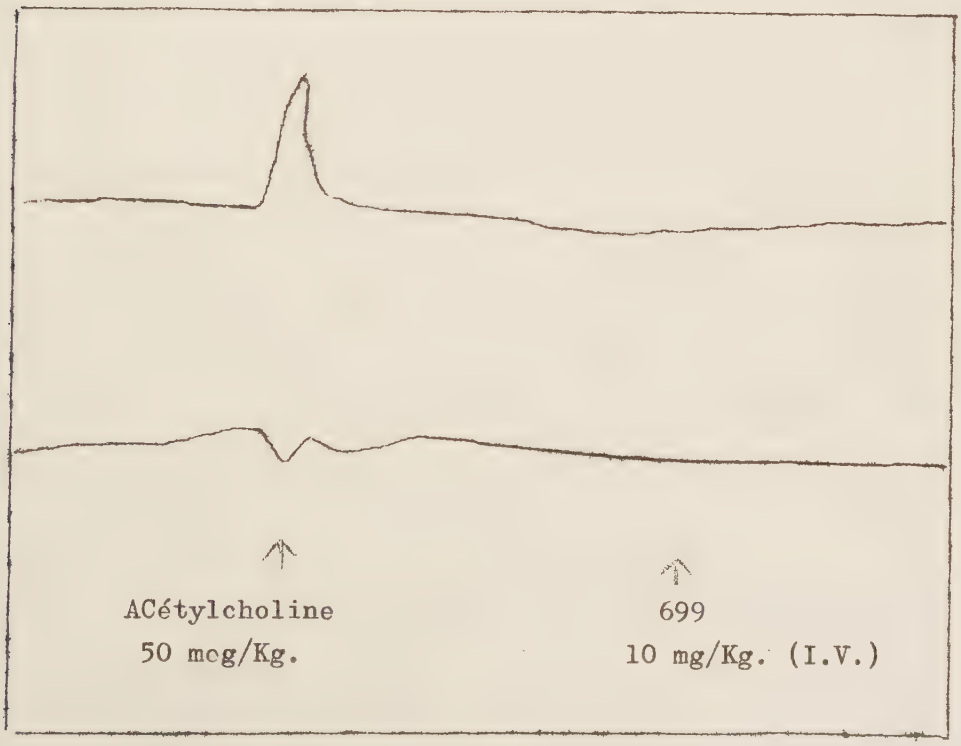
Enregistrement



ACTION DIRECTE de la CODEINE, de l' ACETYLCHOLINE et du 699

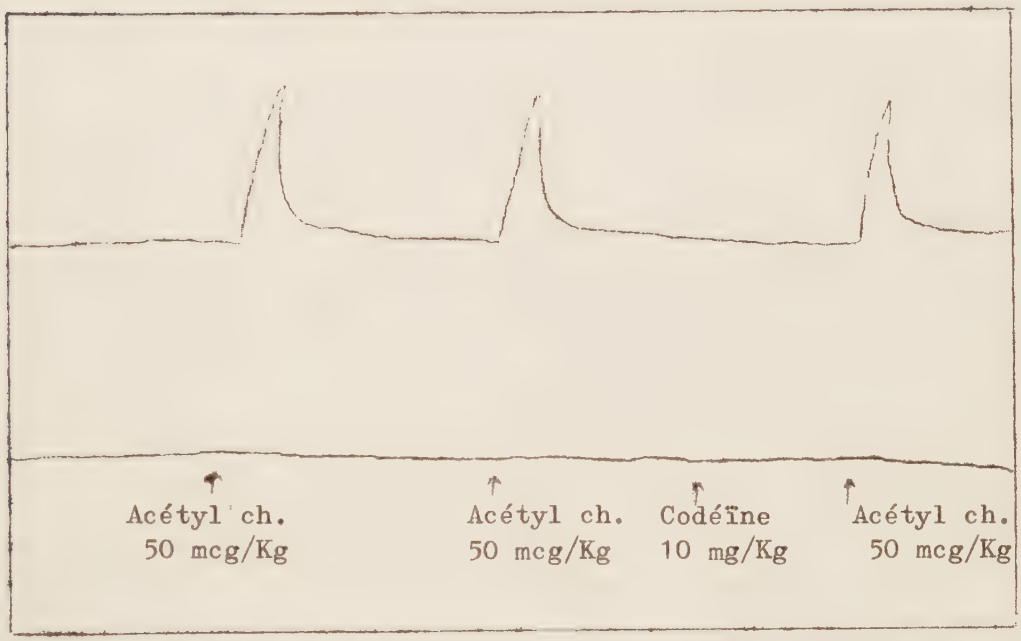
sur le TONUS BRONCHIQUE

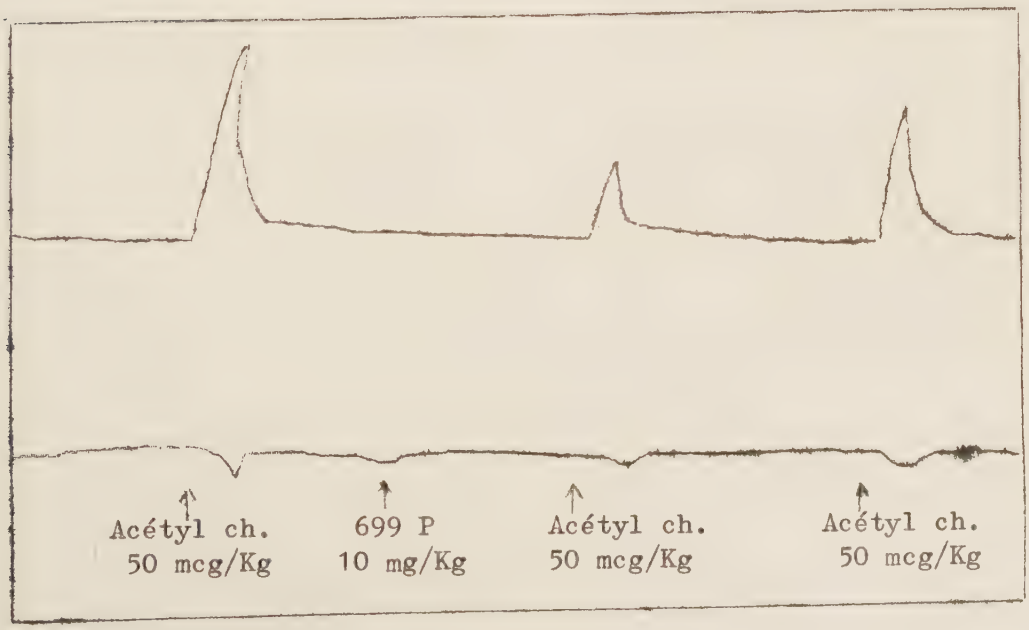




ACTION de la CODEINE et du 699

vis-à-vis du SPASME BRONCHIQUE à l'ACETYL CHOLINE





Le 699 ne provoque aucune bronchoconstriction à des doses allant de 5 à 50 mg/Kg mais diminue la bronchoconstriction dûe à l'acétylcholine dès 10 mg/Kg, alors que la codéïne provoque une constriction b ronchique à partir de 16 mg/Kg et n'a aucun effet spasmolytique vis-à-vis de l'acétylcholine.

- Recherche d'une action constipante chez la Souris

La recherche de l'action constipante a été abordée par la mise en évidence d'un antagonisme vis-à-vis de substances laxatives, selon la technique de LOU légèrement modifiée.

Des lots de 10 souris, à jeûn depuis quatre heures, ont été traitées par voie orale simultanément par les produits intéressés et un mélange de sennosides A et B. Les animaux ont été répartis en cages séparées, dont le fond était recouvert d'un papier filtre. On compte à intervalles réguliers le nombre de selles totales émises par les animaux en différenciant les selles dures et les selles molles laissant une tâche sur le papier.

Un lot témoin ne recevait aucun produit, un lot ne recevait que les sennosides.

Les résultats ont été comparés à ceux obtenus après traitement par la codéïne. (tableauXIX et graphique 3).

... / ...

Tableau XIX

ANTAGONISME vis-à-vis de l'ACTION LAXATIVE des SENNOSIDES

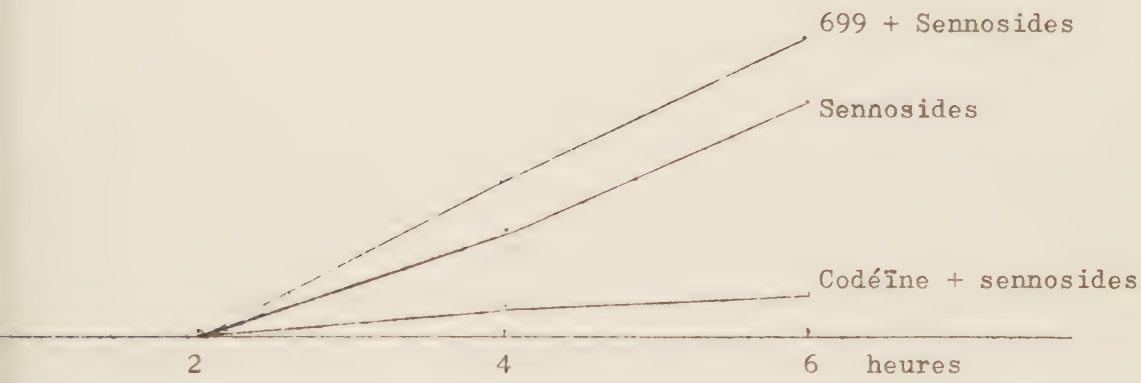
Produit	Doses mg/Kg	Rapport avec la DL 50	Nombre de selles émises						Nombre de selles total		
			dures			molles					
			2h	4h	6h	2h	4h	6h	2 h	4 h	6 h
Témoin	-	-	19	22	28	0	0	0	19	22	28
Sennosides	12	-	28	37	47	0	13	30	28	50	77
699 + "	80	1/10	26	39	45	0	19	38	26	58	83
Codéïne + Sennosides	40	1/12	12	14	20	0	3	4	12	17	24

GRAPHIQUE Nº 3

RECHERCHE de l'ACTION CONSTIPANTE du 699 et de la CODEÏNE

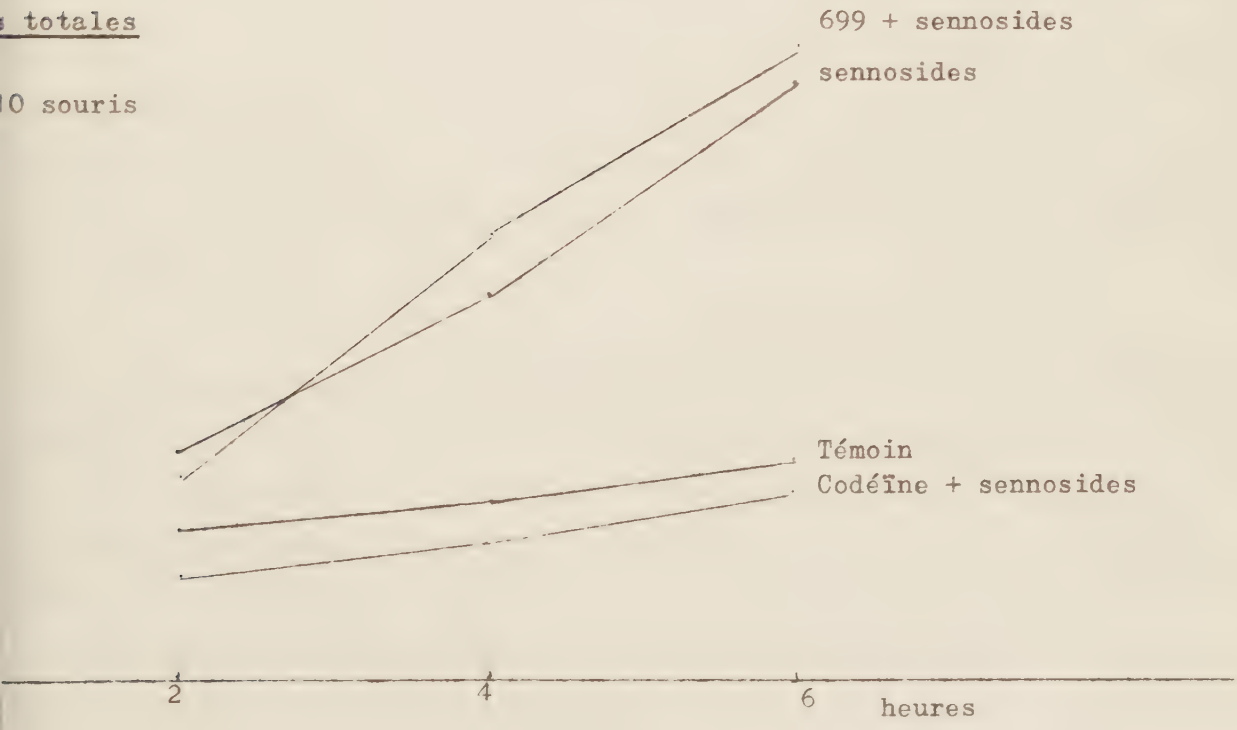
s molles

10 souris



s totales

10 souris



Dans cette expérience, nous avons vérifié l'action constipante nette de la codéïne, qui se retrouve lors de l'utilisation clinique de cet alcaloïde, alors que le 699 est totalement privé de cet effet secondaire.

- Conclusion

L'expérimentation entreprise tant in vitro qu'in vivo nous permet de conclure à l'absence, chez le produit 699, de propriétés contracturantes de la fibre lisse. A forte dose, on observe même une légère activité sapsmolytique vis-à-vis des agents contracturants classiques. Ceci fait penser que le 699 présentera certains avantages lors de son expérimentation en clinique humaine par rapport à la codéïne. En particulier, on ne pourra craindre ni un effet bronchoconstricteur, ni un effet constipant que l'on reproche entre autre aux antitussifs morphiniques.

E - ETUDE des EFFETS LATERAUX: ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE GENERALE

Les actions latérales d'un médicament, à l'inverse des actions secondaires, peuvent se définir comme celles qui sont sans rapport avec les actions pharmacologiques essentielles, et qui ne peuvent être mises en évidence que par l'étude systématique et complète des principaux domaines de la pharmacologie.

Le but de notre travail n'étant pas de décrire toutes les épreuves auxquelles peuvent être soumises les molécules nouvelles, mais d'en étudier le mécanisme d'action, nous avons limité ce chapitre à la recherche de l'action du 699 au niveau du système nerveux autonome d'une part, et du système cardio-vasculaire, d'autre part. En effet, d'une part, celles-ci peuvent interférer avec l'action antitussive et la seconde est indispensable pour l'utilisation clinique de toute molécule nouvelle.

... / ...

Nous avons,en outre, recherché les propriétés antiinflammatoires de ce produit, propriétés qui sans être indispensables à un antitussif peuvent être quelquefois utiles si l'on pense aux toux résultant d'une inflammation de l'arbre trachéo-bronchique (toux chronique bronchitique des fumeurs).

1) - ACTION du 699 au NIVEAU du SYSTEME NERVEUX AUTONOME

L'étude du 699 au niveau du système nerveux autonome a été faite sur le Chien anesthésié au chloralose à la dose de 100 mg/Kg. La pression artérielle carotidienne a été enregistrée à l'aide d'un manomètre à mercure de Ludwig. On a étudié les modifications tensionnelles dûes à l'injection de 5 ou 10 mcg/Kg d'adrénaline, de 10 mcg/Kg de noradrénaline, de 2 ou 5 mcg/Kg d'acétylcholine, de 2 cmg/Kg d'histamine, à l'excitation électrique du nerf pneumogastrique périphérique et à l'occlusion des carotides.

Les doses utilisées ont été de 2,5, 5, 10 et 20 mg/Kg et correspondaient donc au 1/40, 1/20, 1/10 et 1/5 de la DL 50.

- Action tensionnelle directe:

Aucune modification tensionnelle n'a suivi l'injection de 2,5 mg/Kg. Une hypotension fugace apparaît dès 5 mg/Kg mais celle-ci n'augmente pas avec les doses injectées.

- Action vis-à-vis de l'adrénaline et de la noradrénaline:

- à 2,5 - 5 mg/Kg: aucune modification tensionnelle n'est observée;

à 10 et 20 mg/Kg: on obtient une légère augmentation de l'hypertension dûe aux médiateurs, croissant avec les doses.

... / ...

- Action vis-à-vis de l'acétylcholine et de l'excitation du X périphérique:

2,5 - 5 mg/Kg: ne donnent aucune modification de l'hypotension consécutive à l'administration d'acétylcholine et à l'excitation électrique du pneumogastrique périphérique.

à 10 mg/Kg: on note une diminution de l'hypotension, mais celle-ci est inconstante, et variable de 0 à 20 % selon les animaux.

à 20 mg/Kg: une diminution moyenne de 30 % de la pression artérielle est observée chez tous les animaux.

- Action vis-à-vis de l'Histamine:

Quelle soit la dose administrée, l'hypotension due à l'injection d'histamine est inchangée.

- Action vis-à-vis de l'occlusion des carotides:

à 2,5 mg/Kg: l'hypertension consécutive à l'occlusion des carotides n'est pas modifiée.

à 5 mg/Kg: on observera selon les animaux soit une augmentation soit une diminution de l'hypertension.

à 10 et 20 mg/Kg: donnent une diminution de l'hypertension à 10 mg/Kg, et une disparition à 20 mg/Kg.

- CONCLUSION

L'action du 699 sur les différents médiateurs du système nerveux autonome est résumée dans le tableau XX. Les résultats obtenus permettent de tirer les conclusions suivantes: à 2,5 et 5 mg/Kg, qui correspondent à une activité antitussive moyenne et forte, le produit semble ne pas interférer dans le fonctionnement du système nerveux autonome. Aux doses supérieures,

... / ...

qui dépassent l'action pharmacologique et qui correspondent au 1/10 et au 1/5 de la DL 50, on assiste à un certain nombre de modifications: diminution de l'action tensionnelle de l'acétylcholine et de l'excitation du pneumogastrique périphérique, augmentation de la réponse à l'injection d'adrénaline, permettant de penser à une activité ganglioplégique. Cette activité a été recherchée plus précisément par la préparation classique de la membrane nictitante du Chat.

- Recherche de l'action ganglioplégique

L'excitation de la fibre préganglionnaire du nerf sympathique cervical du Chat provoque la contraction de la membrane nictitante. Après administration d'un ganglioplégique, l'excitation préganglionnaire est inefficace, mais la contraction de la membrane nictitante peut être obtenue, soit par l'excitation de la fibre postganglionnaire, soit par l'injection d'adrénaline.

Les résultats qui figurent dans le tableau XXI confirme l'activité ganglioplégique du 699 qui n'apparaît qu'à des doses égales ou supérieures au 1/10 de la DL 50. Ces doses sont très nettement supérieures aux doses antitussives moyennes.

... / ...

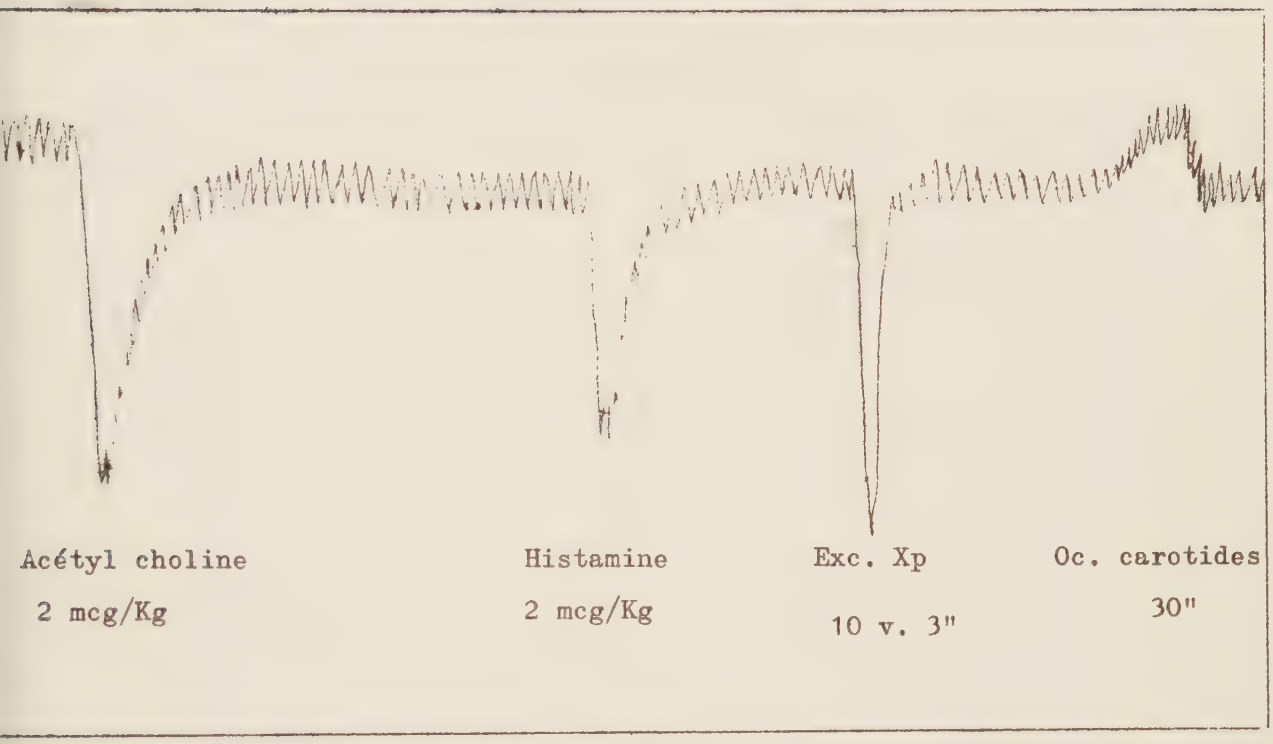
ACTION TENSIONNELLE DIRECTE et ACTIVITE vis-à-vis des MEDIATEURS du S.N.A

Doses mg/Kg	Rapport DL 50	Effet tensionnel	Ad.	Nad.	Acétyl.	Xp	O.C.	Histamine
2,5	1/40	0	0	0	0	0	0	0
5	1/20	Hypot. fugace	0	0	0	0	ou	0
10	1/10	id.	↗	↗	⇢	⇢	↘	0
20	1/5	id.	↗	↗	↘	↘	↘	0

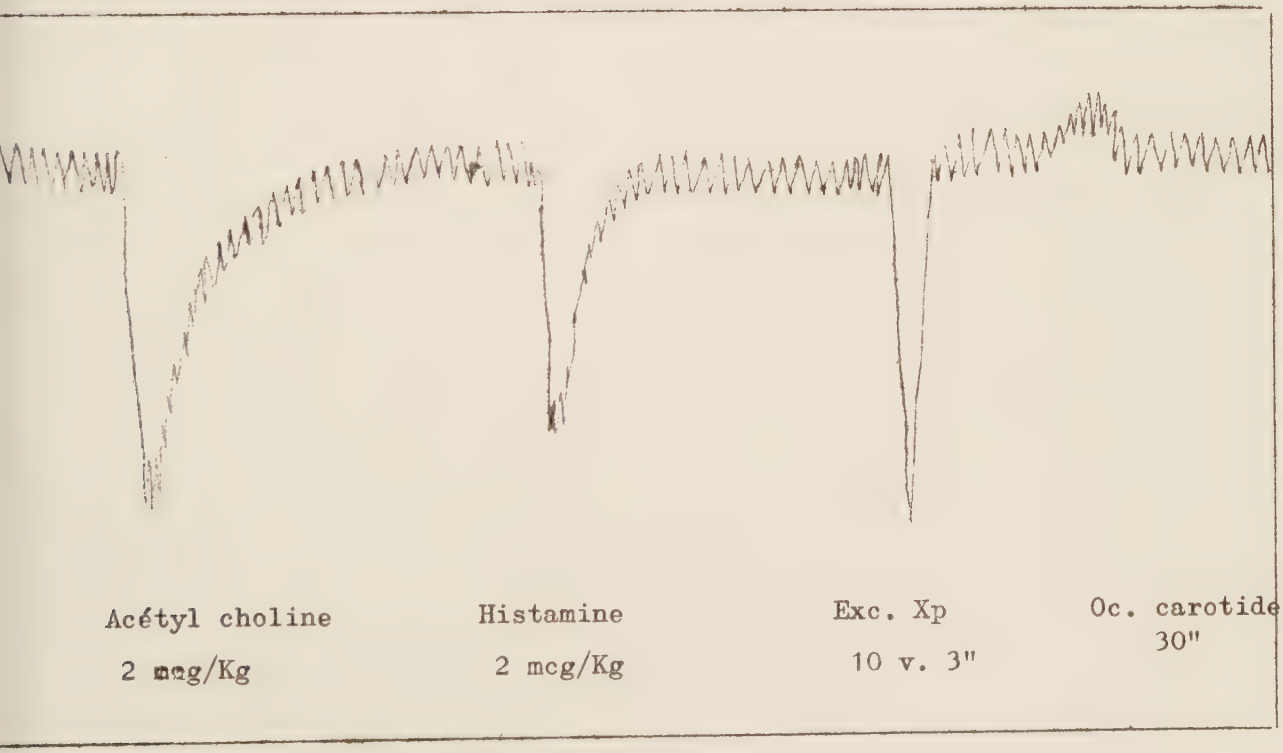
↗ ou ↘ augmentation ou diminution constante de l'effet tensionnel

⇢ ou ⇢ " " inconstante " " "

ACTION du 699 sur le SYSTEME NERVEUX AUTONOME



Avant 699



Après 699

TABLEAU XXI

ACTIVITE GANGLIOPLEGIQUE

Pourcentage de diminution de la contraction de la membrane après excitation électrique de la fibre sympathique préganglionnaire.

Produit	Temps en mn	Doses mg/Kg			
		2,5	5	10	20
699	5	0	0	17	56
	10	0	0	11	59
	15	0	0	15	70
	30	0	0	29	56
	45	0	0	20	45
		1			
Hexaméthonium	5	83			
	10	63			
	15	57			
	30	42			

... / ...

2) - ACTIVITE CARDIO-VASCULAIRE

L'activité cardio-vasculaire du 699 a été étudiée par les techniques classiques du coeur et de l'oreillette isolée.

- Coeur isolé:

Un coeur isolé de Lapin est maintenu en survie dans une enceinte thermostatique par la perfusion d'une solution de Ringer. On enregistre les contractions et le débit coronaire. Le produit a été dissout dans la solution de Ringer, à des concentrations croissantes allant de 10^{-6} à 10^{-5} g/ml.

Les résultats obtenus peuvent se résumer ainsi:

- aucune action sur le tonus diastolique.
- un léger effet inotrope négatif apparaît à la concentration de 10^{-5} mais disparaît dès le rinçage de la préparation, preuve de la non-imprégnation de la fibre cardiaque par le produit.
- sur le débit coronaire, on observ e une faible vasodilatation fugace qui s'estompe durant la perfusion.

- Oreillette isolée:

Aucune action n'a été observée sur l'oreillette isolée jusqu'à des concentrations de 10^{-4} g/ml.

L'ensemble de ces résultats permet d'éliminer toute action toxique du 699 sur la fibre cardiaque, tant sur le tonus diastolique que sur force des contractions. Une légère vasodilatation coronaire de courte durée apparaît pour de fortes concentrations.

... / ...

3) - RECHERCHE d'une ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

L'activité anti-inflammatoire du 699 a été recherchée à l'aide d'une technique provoquant un oedème expérimentale de la patte du Rat par injection de carragénine.

- Protocole expérimental

Ce protocole, désormais classique, sera décrit rapidement. Le produit est administré par voie orale, 1 heure avant l'injection de carragénine. L'oedème est provoqué par une injection intra-plantaire de 0,05 ml d'une solution de carragénine à 1%. L'oedème apparaît dans l'heure qui suit l'injection et atteint son maximum 3 heures après. Les variations de volume des pattes sont mesurées avec un comparateur de volume. Les résultats obtenus, à partir des lots traités au 699,sont comparés à ceux d'un lot témoin et d'un lot ayant reçu 100 mg/Kg de phénylbutazone que nous avons pris comme produit de référence. On calcule le pourcentage d'inhibition de l'oedème des lots traités par rapport à celui du lot témoin.

Les résultats figurent dans le tableau XXII.

Les propriétés anti-inflammatoires du 699, qui ont été confirmées par d'autres expériences, sont nettes. Leur mécanisme d'action demanderait une étude plus approfondie mais dépasse le cadre de ce travail; il semble, cependant, que cette activité soit tout à fait indépendante de l'activité antitussive de la molécule.

... / ...

Tableau XXII

OEDEME de la PATTE à la CARRAGENINE: AUGMENTATION du VOLUME de la PATTE après 3 heures

Rat	Témoin	6 9 9			Phényl-butazone
		mg/Kg			
		42	85	170	100
1	1,10	1,40	0,80	0,50	0,80
2	0,90	0,90	0,80	0,60	0,70
3	1,40	1,10	0,90	0,90	0,60
4	1,20	1,20	0,80	0,80	0,80
5	0,80	0,70	0,90	0,50	0,80
6	1,20	1,40	1,10	0,90	0,60
7	1,40	0,90	0,60	0,90	0,60
8	1,00	0,90	0,40	0,40	0,80
9	0,90	0,80	0,70	0,60	0,80
10	1,10	1,20	0,70	0,50	0,60
Total	11,3	10,5	7,70	6,60	7,10
Moyenne	1,13	1,05	0,77	0,66	0,71
% inhibition oedème	-	6	31,8	41,5	37,1

... / ...

F - CONCLUSION de l'ETUDE PHARMACOLOGIQUE du 699: MECANISME de l'ACTION ANTITUSSIVE

L'étude pharmacologique que nous avons entreprise sur le corps 699 nous permet de tirer un certain nombre de conclusions quant au mécanisme de l'action antitussive de cette molécule.

La toux étant un phénomène réflexe, il s'agira donc d'analyser l'action du produit à tous les stades de ce réflexe pour en déduire le lieu d'action.

Reprenant les considérations anatomo-pathologiques que nous avons mentionnées au début de ce travail, nous pouvons localiser l'action antitussive en un lieu périphérique et un lieu central.

- ACTION PERIPHERIQUE

Un antitussif à action périphérique peut agir au niveau des terminaisons sensibles de l'axe trachéobronchique ou extra pulmonaire. Le produit sera alors doué de propriétés anesthésiques locales marquées. Il peut agir aussi par ses propriétés spasmolytiques, sur le bronchospasme qui joue un rôle non négligeable dans l'élaboration du phénomène tussigène. Au niveau des terminaisons afférentes du réflexe, tout produit agissant par ses propriétés relaxantes musculaires et curarisantes pourra inhiber la toux par la paralysie des muscles respiratoires entrant en jeu.

Quatre propriétés pharmacologiques peuvent donc expliquer une action antitussive périphérique:

- propriété anesthésique locale,
- " spasmolytique,
- " relaxante musculaire,
- " curarisante.

... / ...

Le produit étudié ne présente aucune propriété anesthésique locale et une activité spasmolytique trop légère pour pouvoir intervenir de façon prépondérante.

D'après les symptômes observés, lors de la détermination de la toxicité aigue, et les résultats des épreuves relatives au tonus musculaire, il ne possède pas non plus de propriétés relaxantes ou curarisantes. Cette dernière activité n'a pas été recherchée par une technique plus spécifique du fait que la molécule ne présente pas de groupements ammonium quaternaires.

On peut donc conclure que le 699 n'agit pas à la périphérie du réflexe. Avant d'affirmer le lieu central de son action, il fallait s'assurer qu'il n'agissait pas non plus par l'effet d'une paralysie ganglionnaire. Ceci a été démontré par le fait que, même s'il présente une activité ganglioplégique, celle-ci n'apparaît que pour des doses très supérieures aux doses antitussives.

- ACTION CENTRALE

L'activité antitussive d'une substance à point d'impact central peut se dissocier en une dépression aspécifique des centres nerveux supérieurs qui inhibent les centres sous-jacents, en particulier les zones respiratoires et tussigènes et en une atteinte particulière du centre de l'élaboration du réflexe, et plus précisément des trajets nerveux qui le constituent en relation avec le centre respiratoire. Il faudra alors distinguer les produits aspécifiquement antitussifs des substances dont les actions dépressives respiratoires et antitussives sont si étroitement liées qu'on ne sait à priori qu'elle est celle qui est la conséquence de l'autre.

... / ...

La première preuve d'une action dépressive centrale aspécifique nous a été donnée par l'utilisation de la technique de DOMENJOZ. En effet, la toux est obtenue par l'excitation électrique du nerf laryngé supérieur, conduisant l'influx nerveux centripète au centre du réflexe. Il ne s'agit pas d'une potentialisation des effets des anesthésiques généraux puisque le produit agit aussi bien sur l'animal anesthésié que sur l'animal vigile.

Enfin, nous pouvons éliminer l'éventualité d'une action dépressive centrale sur les centres supérieurs. Ceci a été prouvé par l'absence d'un certain nombre d'activités: anticonvulsivantes, hypothermisante et surtout par la mise en évidence de l'activité antitussive sur l'animal décérébré. Dans cette technique, la section de décérébration passe entre les tubercules quadrijumeaux, le centre respiratoire étant intact.

Le produit s emble donc agir sélectivement sur le "centre de la toux", tout en faisant la restriction nécessaire à une telle appellation, faite au début de cet exposé. Il apparaît même que l'on puisse lui accorder une spécificité plus grande que celle généralement attribuée à la codéïne. En effet, pour cet alcaloïde, l'action antitussive coïncide toujours avec une dépression respiratoire marquée, l'une étant étroitement liée à l'autre, alors que pour le 699, la dépression respiratoire nulle pour des doses moyennes actives n'apparaît que pour de fortes posologies sans jamais égaler celle observée après administration de codéïne.

... / ...

G - ETUDE TOXICOLOGIQUE

L'étude toxicologique du 699 a comporté, d'une part, un essai de toxicité subaigue par administrations répétées du produit au Rat et, d'autre part, la recherche d'une toxicité éventuelle liée à la libération dans l'organisme du groupement CN.

1 - TOXICITE SUBAIGUE chez le RAT

- Protocole expérimental

Cet essai a été réalisé sur des rats mâles et femelles répartis en lots homogènes de six et pesant en moyenne 100 $\pm$ 20 g en début d'expérimentation.

Le produit a été administré 6 jours sur 7 en solution dans l'eau distillée à raison de 10 ml/Kg de solution. Un lot témoin mâle et un lot témoin femelle ont reçu la même quantité d'eau distillée et soumis aux mêmes conditions extérieures.

Les animaux ont été pesés une fois par semaine, afin de suivre leur croissance pondérale.

Chaque animal a été soumis en début et fin d'expérimentation à des examens hématologiques: numération des hématies et des leucocytes, détermination de la formule leucocytaire. En fin d'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et autopsiés. Les principaux organes ont été prélevés, pesés et ont fait l'objet d'un examen microscopique. L'essai a porté sur 5 semaines.

Les doses de 699 administrées étaient de:

- 100 et 200 mg/Kg, et correspondaient au 1/5 et au 1/10 de la DL 50 déterminée par la même voie chez la même espèce animale.

... / ...

- Résultats

- Aucune mortalité n'a eu lieu au cours du traitement.

- La croissance pondérale a été identique chez les lots traités et témoins, comme le montrent les courbes de croissance établies d'après le poids moyen des animaux (graphiques 4 et 5).

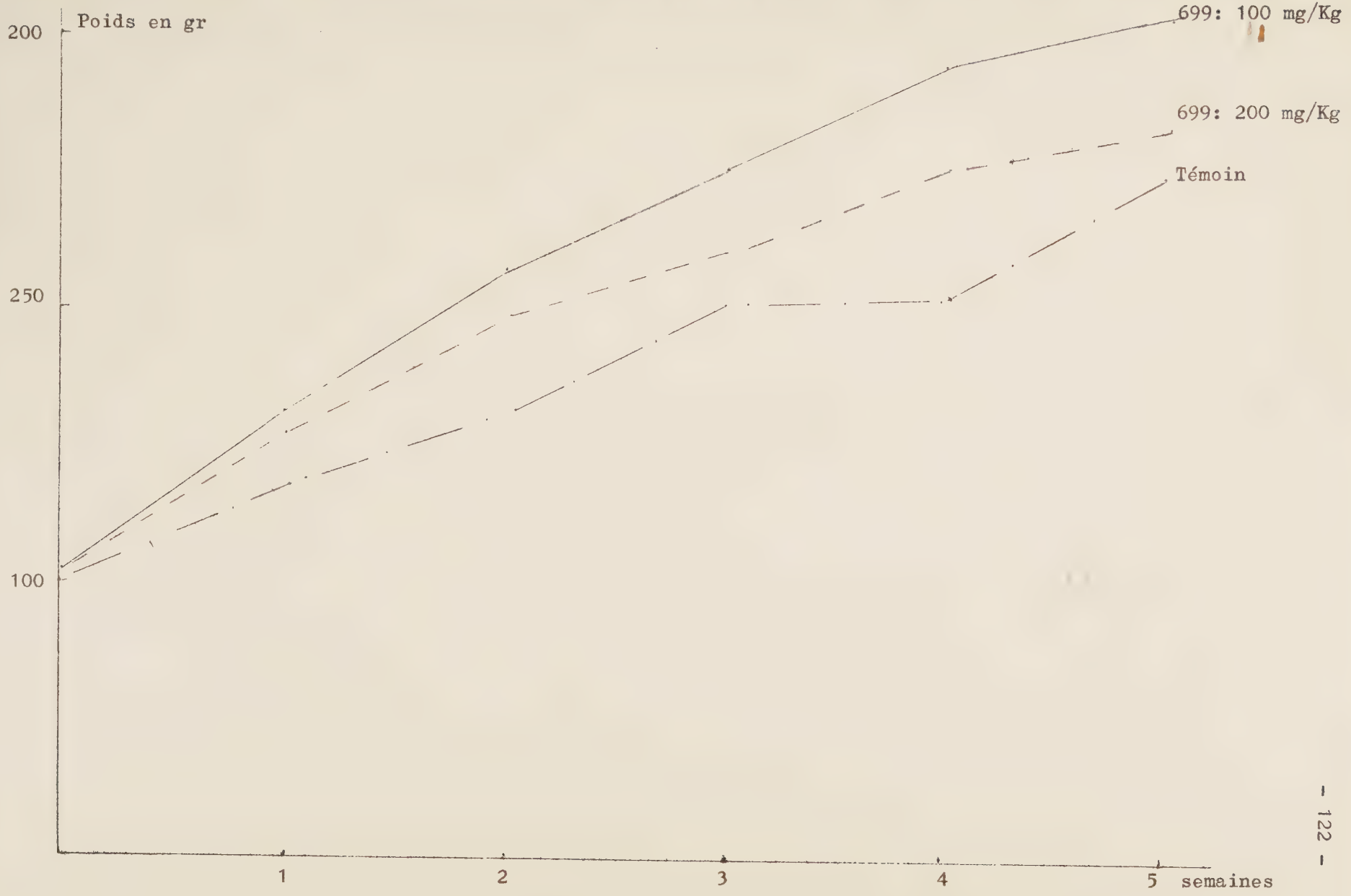
- En ce qui concerne les examens hématologiques, les différences observées entre le début et la fin du traitement sont comparables dans les séries témoins et traitées et sont normales pour l'espèce animale considérée (tableaux XXIII, XXIV).

- L'autopsie n'a révélé aucune altération macroscopique des principaux organes; leur poids moyen n'est pas significativement différent de celui des animaux traités (tableaux XXV; XXVI).

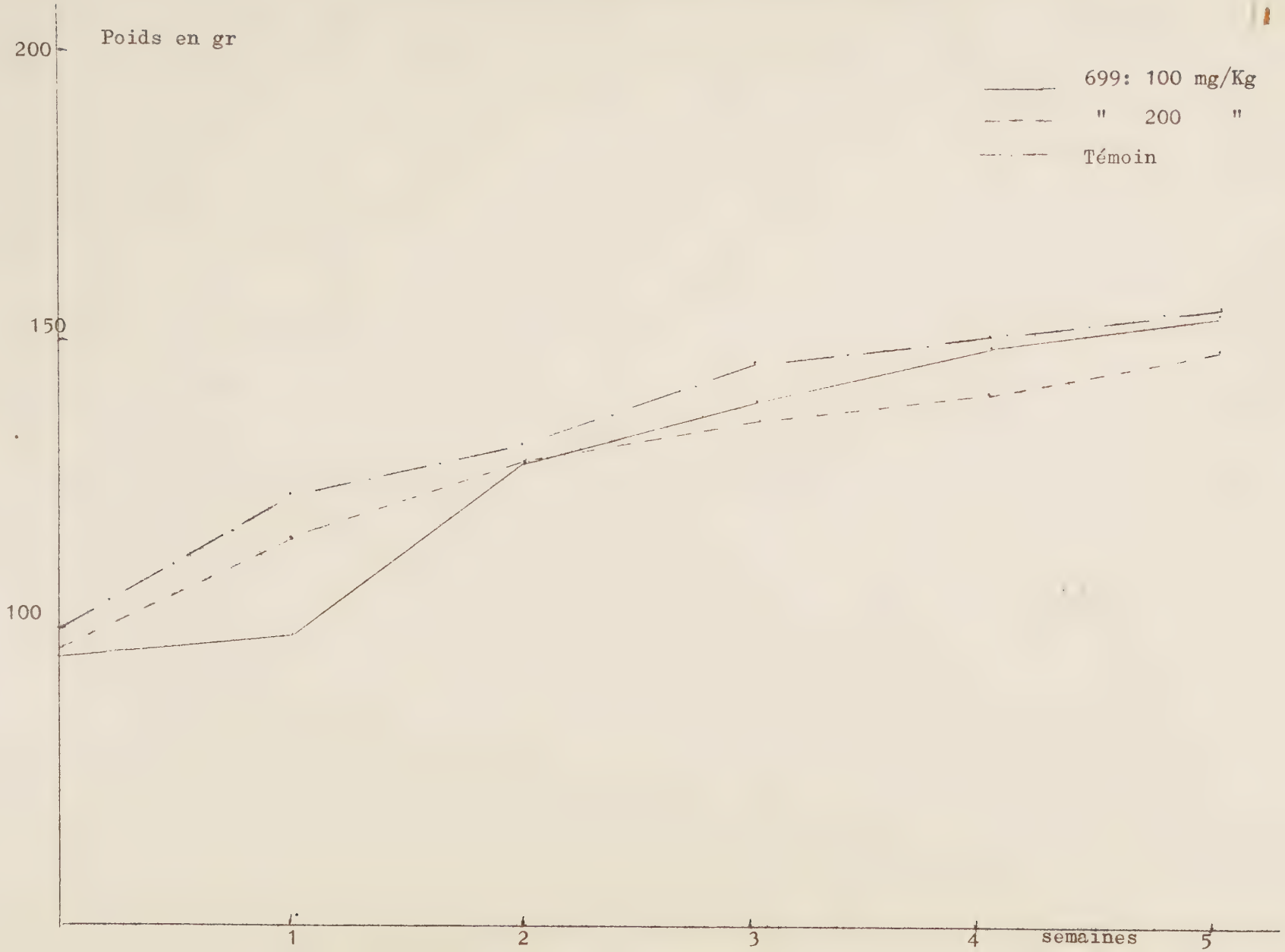
- L'examen anatomo-pathologique des principaux organes: foie, rein, rate, intestin, surrénales, thyroïdes, coeur, estomac, ovaires ou testicules, n'a décelé aucune altération microscopique de ceux-ci pouvant être liée à l'absorption r épétée de 699 par l'animal de laboratoire, au cours de cet essai de toxicité subaigue.

... / ...

CROISSANCE PONDERALE des RATS MÂLES TRAITES au 699



CROISSANCE PONDERALE des RATS FEMELLES TRAITES au 699



NUMERATIONS SANGUINES: HEMATIES et LEUCOCYTES des RATS TRAITES au 699

Doses mg/Kg	Date	MALES		FEMELLES	
		Hématies x 10^6/mm^3	Leucocytes /mm^3	Hématies x 10^6 /mm^3	Leucocytes /mm^3
100	Début	7,96	14.260	8,20	15.500
	Fin	9,57	19.180	10,70	15.240
200	Début	8,30	17.060	8,10	17.160
	Fin	9,41	17.860	8,25	14.460
Témoin	Début	7,86	17.200	8,82	17.400
	Fin	9,22	19.640	10,74	18.480

FORMULES LEUCOCYTAIRES des RATS TRAITES au 699 pendant 1 MOIS

Dose mg /Kg	Date	MALES				FEMELLES			
		Poly neutro.	Poly Eosino.	Poly baso.	Mononuc.	Poly neutro.	Poly Eosin.	Poly baso.	Mononuc.
		%							
100	Début	21,8	0,4	-	77,8	14	3	0,5	83
	Après 1 mois de traitement	14,5	2	-	83,5	23	1,5	0,5	75
200	Début	16,6	2	-	81,6	12	3,2	1	83,8
	Après 1 mois de traitement	11,6	1	-	87,4	13,6	3,4	1	82
Témoin	Début	13,5	2	0,5	84	16	1,6	0,2	83,2
	Après 1 mois de traitement	13,5	3	0,5	81	33	2,2	0,2	64

POIDS MOYEN des ORGANES RAPPORTES à 100 g de POIDS CORPOREL (en g)

RATS TRAITES au 699

MALES

Doses mg/Kg	Foie	Rate	Rein	Surrénales	Thyroïdes	Testicules ou Ovaires
Témoin	3,59	0,200	0,825	0,023	0,008	1,277
100	3,43	0,200	0,879	0,021	0,0076	1,370
200	3,41	0,240	0,788	0,024	0,0080	1,044

FEMELLES

Tableau XXVI

Témoin	3,42	0,177	0,871	0,036	0,0078	24,3
100	3,67	0,240	0,878	0,0307	0,0081	23,1
200	3,95	0,225	0,854	0,0334	0,0086	25,3

2 - ETUDE d'une TOXICITE LIEE au GROUPEMENT CN

La structure chimique du 699 comprenant un groupement nitrile, il nous a paru intéressant et même indispensable de rechercher une toxicité spécifique de la molécule en relation avec la libération dans l'organisme de ce groupement. On sait, en effet, que le cyanure a la propriété d'inhiber, de façon caractéristique, la cytochrome-oxydase, et d'être un découplant de la phosphorylation oxydative.

Deux séries d'essais ont donc été entreprises par la technique WARBURG, in vitro puis in vivo, sur des organes d'animaux traités par le 699.

a) - Inhibition de la cytochrome-oxydase

- Principe de la méthode

Nous avons utilisé la technique décrite par BRAUNLICH (14) basée sur le fait que l'oxydation du p.phénylène diamine entraîne une réduction de la cytochrome-oxydase, puis une réoxydation secondaire. L'essai consiste donc en une détermination de la respiration cellulaire en présence du p.phénylène diamine et du produit à étudier.

- In vitro:

Des essais comparatifs ont été réalisés avec le 699, d'une part, et le cyanure de potassium, d'autre part. La technique consiste à mettre dans la fiole de Warburg:

- 1 ml d'homogénéisat de foie, obtenu à partir d'une suspension de 100 mg dans 5 ml de tampon phosphate à pH = 7,4.
- 0,5 ml d'une solution de p. phénylènediamine à 1 %;
- 0,5 ml de tampon phosphate contenant ou non la substance à étudier.

... / ...

- Dans la partie centrale de la fiole on verse 0,2 ml d'une solution de potasse à 15 %.

Les lectures ont été faites tous les quarts d'heure, pendant 1 heure.

Le 699 a été étudié aux concentrations de 4×10^{-5} et de 2×10^{-4}; le CNK, aux concentrations de $1,25 \times 10^{-5}$, 2×10^{-5} et 4×10^{-5}.

Compte tenu des poids moléculaires du CNK et du 699 qui sont respectivement de 65 et de 338, les concentrations de 4×10^{-5} en CNK et de 2×10^{-4} en 699 sont sensiblement équivalentes en groupement $C \equiv N$.

- Résultats

Les résultats obtenus figurant dans le tableau XXVII et le graphique 6 montrent l'inactivité du 699, in vitro, vis-à-vis de la cytochrome-oxydase à l'inverse du CNK qui l'inhibe déjà de façon significative à une concentration de $1,25 \times 10^{-5}$. La concentration la plus forte de 699 utilisée est dénuée d'activité, alors qu'une concentration équivalente de CNK provoque une inhibition moyenne de 40 % pendant 1 heure.

Cependant, ces expériences ayant été faites in vitro, il était essentiel de savoir si le produit était aussi inactif après avoir été métabolisé dans l'organisme. C'est pourquoi nous avons entrepris des essais identiques sur des homogénéisats de foies d'animaux traités.

- In vivo

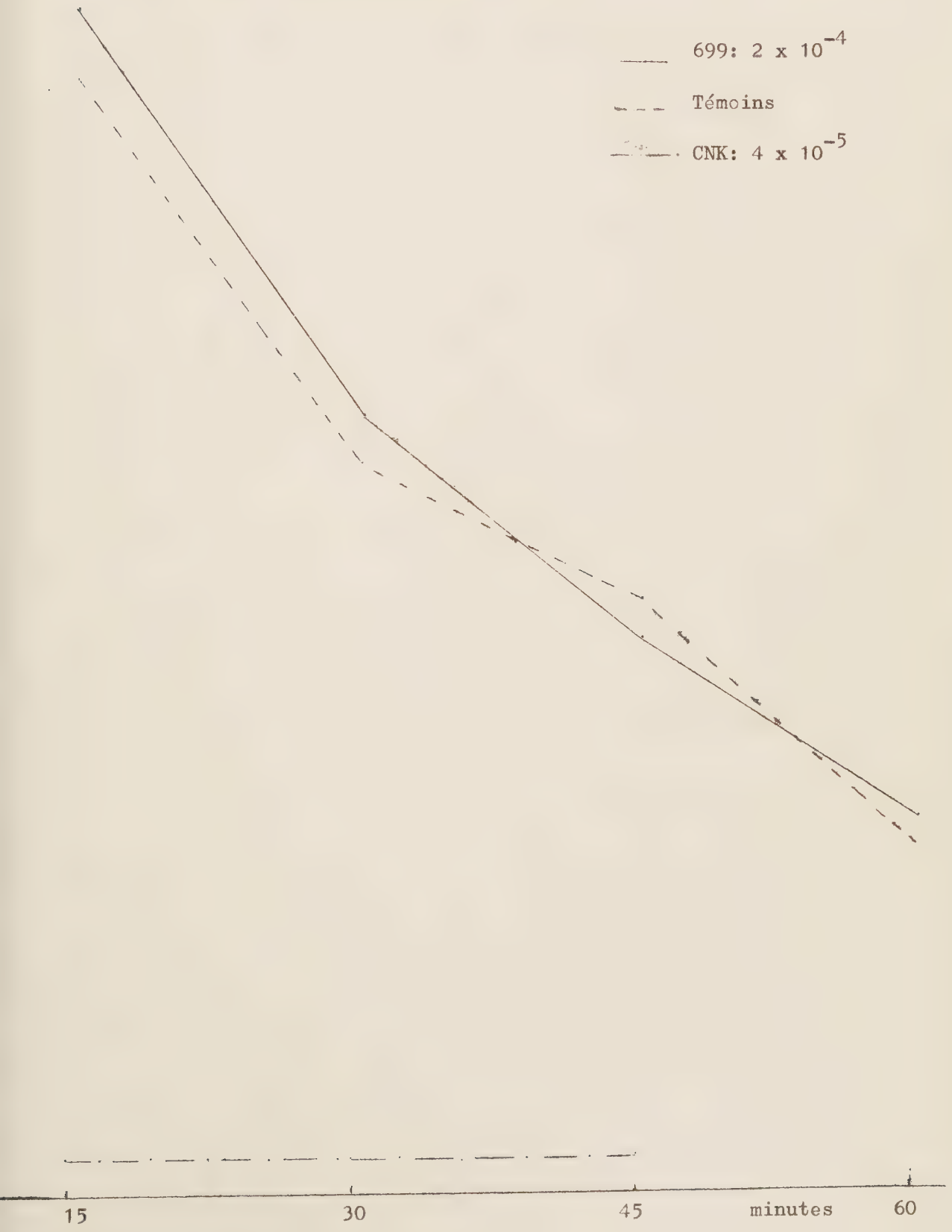
La technique a été la même que celle décrite précédemment.

Des lots de 6 animaux ont reçu le 699, par voie intrapéritonéale à la dose de 100 mg/Kg. Ils ont été sacrifiés 40' après,

... / ...

Graphique 6

ACTION IN VITRO du 699 et de la CODEINE sur la CYTOCHROME-OXYDASE



Produit	15'				30'				45'				60'			
	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %
CNK $1{,}25 \times 10^{-5}$	6	6140	$<0{,}05$	- 31	6	5536	0,05		6	5058	0,05	- 26	6	4420	$>0{,}05$	- 15
TEMOIN	6	8922			6	7512			6	6288			6	5202		
CNK $2{,}5 \times 10^{-5}$	6	4260	$<0{,}05$	- 38	6	4538	0,05		6	4062	0,05	- 27	6	4000	$>0{,}05$	- 11
TEMOIN	6	6916			6	6244			6	5658			6	4510		
CNK 4×10^{-5}	12	3596	$<0{,}05$	- 55	12	3604	$<0{,}05$		12	3696	0,05	- 44	12	3564	0,05	- 29
TEMOIN	12	7930			12	6446			12	5662			12	5012		
699 4×10^{-5}	6	8130	$>0{,}05$	0	6	6196	$>0{,}05$		6	5194	0,05	- 4	6	4550	$>0{,}05$	- 5
TEMOIN	6	8116			6	5988			6	5149			4	4774		
699 2×10^{-4}	12	8208	$>0{,}05$	+ 3	12	6616	$>0{,}05$		12	5734	$>0{,}05$	+ 3	12	4919	$>0{,}05$	- 2
TEMOIN	12	7930			12	6646			12	5662			12	5012		

n = nombre de mesures - QO_2 = Consommation d'O_2 en microlitres par g. de tissu et par heure

p = probabilité - v = variation en % par rapport aux témoins.

le foie a été prélevé et homogénéisé à raison de 150 mg dans 5 ml de tampon phosphate.

Les lectures ont été faites tous les quarts d'heure pendant 1 heure. Quatre séries de 6 animaux ont été mises en oeuvre.

- Résultats

Nous avons comparé la moyenne des résultats des lots traités et celle des lots témoins à l'aide du test " t " de Student.

La valeur de " t " est donnée par la formule :

$$t = \frac{(m_A - m_B)}{\sqrt{\frac{S^2}{n_A} + \frac{S^2}{n_B}}}$$

formule dans laquelle :

m_A et m_B sont les deux moyennes à comparer,

S^2 est la variance commune aux deux lots, calculée d'après la variance de chaque lot, selon la formule suivante :

$$S^2_A = \frac{(x - m_A)}{n_A - 1}$$

$$S^2 = \frac{(n_A - 1) \sum \frac{(x - m_A)^2}{n_A - 1} + (n_B - 1) \sum \frac{(x - m_B)^2}{n_B - 1}}{n_A + n_B - 2}$$

Des tables de " t " donnent en fonction du degré de liberté égal à $n_A + n_B - 2$, la valeur p, ou probabilité, pour que les deux moyennes soient différentes. On estime, en général, que pour une valeur égale ou inférieure à 0,05, la différence entre les deux moyennes observées est significative.

Les résultats consignés dans le tableau (XXVIII) montrent l'inactivité du 699 in vitro vis-à-vis de la cytochrome oxydase.

b) - Activité découplante de la phosphorylation oxydative

L'activité découplante de la phosphorylation oxydative d'un produit se traduit au niveau cellulaire par une augmentation de la consommation d'oxygène par les tissus . La recherche d'une telle activité consiste donc en une détermination de la consommation d'oxygène par les tissus selon la méthode classique de Warburg, sans utiliser de substrat.

Ces essais ont été réalisés in vivo et in vitro.

- In vitro

- Technique:

La consommation d'oxygène d'homogénéisats de cerveau de Rat en présence de 699, d'une part, et en présence de phosphate de codéïne, d'autre part, a été comparée à la consommation normale de tissus témoins.

La technique opératoire consiste à mettre dans les fioles de Warburg:

- 1 ml d'homogénéisat de cerveau de rat dans une solution de Krebs-Ringer, contenant 50 mg de tissu frais par ml,

- 0,1 ml de la solution étudiée ou d'eau dans le cas des témoins.

Dans la partie centrale de la fiole, on verse 0,2 ml de KOH à 15 %.

Les lectures ont été faites tous les quarts d'heure pendant 1 heure.

Le 699 et le phosphate de codéïne ont été étudiés aux concentrations équimoléculaires respectives de 2×10^{-4} et $2,4 \times 10^{-4}$.

... / ...

- Résultats :

La consommation d'oxygène par les tissus mis en contact avec le 699 n'a pas été augmentée, preuve de l'absence d'activité découplante de cette molécule. Au contraire, il faut remarquer une diminution de l'activité respiratoire, quantitativement comparable à celle qui a été observée avec le phosphate de codéine (tableau nº XXIX). Ceci peut faire penser à une similitude d'action des deux substances au niveau des tissus cérébraux, bien qu'aucune action dépressive centrale marquée n'ait pu être mise en évidence pharmacologiquement.

Nous avons poursuivi cette étude in vivo sur des cerveaux de rats traités par le produit.

- In vivo

- Technique :

Elle est la même que celle décrite précédemment.

L'homogénéisat de cerveau était celui de rats traités 40' avant, par le 699 à la dose de 100 mg/Kg et par voie intrapéritonéale.

- Résultats :

Les résultats inscrits dans le tableau XXX permettent de conclure à l'absence d'activité découplante de la phosphorylation oxydative du 699. Nous n'avons pas retrouvé, in vivo, l'action dépressive respiratoire au niveau cellulaire que nous avions mise en évidence, in vitro.

.../...

- CONCLUSION

Les essais que nous avons entrepris, tant in vitro qu'in vivo, relatifs à l'inhibition de la cytochrome-oxydase, nous ont montré l'inactivité du 699 vis-à-vis de ce ferment. D'autre part, ce composé n'entraîne pas non plus de réactions de découplage comme l'a décrit HEYTLER (60) pour certains composés organiques du cyanure. Au contraire, on a pu constater, in vitro, une dépression de l'activité respiratoire cellulaire mais celle-ci n'a pas été retrouvée in vivo. Cette différence montre, une fois encore, l'importance des phénomènes métaboliques présidant aux activités pharmacologiques des substances médicamenteuses administrées.

Il semble donc qu'on n'ait pas à craindre lors d'une utilisation clinique de cette molécule l'apparition de phénomènes toxiques liés à la présence du g roupement nitrile.

... / ...

ETUDE de l'ACTIVITE du 699 vis-à-vis de la CYTOCHROME-OXYDASE - IN VIVO

Produit	15'				30'				45'				60'			
	n	$\mathcal{Q}O_2$	p	v %	n	$\mathcal{Q}O_2$	p	v %	n	$\mathcal{Q}O_2$	p	v %	n	$\mathcal{Q}O_2$	p	v %
699	24	9588	$>0,05$	- 1	24	7220	$>0,05$	- 1	24	6756	$>0,05$	+ 5	24	5488	$>0,05$	- 8
TEMOINS	24	9710			24	7298			24	6422			24	5938		

Tableau XXVIX

ETUDE de l'ACTIVITE DECOUPLANTE de la PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

Consommation d'oxygène par les tissus en présence de 699 et de Codéine - In vitro

699 2×10^{-4}	12	826	$\leqslant 0,05$	-24	12	823	$\leqslant 0,05$	- 17	12	846	$\leqslant 0,05$	- 20	12	1025	$\leqslant 0,05$	- 17
CODEINE $2,4 \times 10^{-4}$	10	872	$\leqslant 0,05$	-18	10	855	0,05	- 15	10	832	$\leqslant 0,05$	- 21	10	1214	$>0,05$	- 2
TEMOINS	12	1077			12	995			12	1060			12	1243		

n = nombre de mesures - $\mathcal{Q}O_2$ = consommation d'O_2 en microlitre par g de tissus et par heure

p = probabilité - v = variation de la consommation d'O_2 en % par rapport aux témoins

Tableau XXX

ETUDE de l'ACTIVITE DECOUPLANTE de la PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

Consommation d'oxygène par les tissus d'animaux traités par le 699 - In vivo

Produit	15'				30'				45'				60'			
	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %	n	QO_2	p	v %
699 - 100 mg/Kg I.P.	12	1045	$>0,05$	- 5	12	882	$>0,05$	- 2	12	941	$>0,05$	+ 0,5	12	955	$>0,05$	+ 1
TEMOINS	12	1107			12	906			12	936			12	946		

n = nombre de déterminations

QO_2 = consommation d'O_2 en microlitres par g de tissu et par heure

p = probabilité

v = variation de la consommation d'O_2 par rapport à la consommation "témoin".

ACTIVITE CLINIQUE -

Bien que l'étude clinique du 699 dépasse le cadre de notre travail, strictement pharmacologique, nous résumérons brièvement les premiers éléments obtenus lors du passage en thérapeutique humaine de cette molécule. En effet, il est intéressant de noter que les résultats obtenus en clinique confirment les hypothèses que nous avions pu faire à la suite de l'étude pharmacologique de cette molécule, tant du point de vue de son activité antitussive que du point de vue de la précision de ses effets secondaires.

Le 699, administré à des malades âgés de 21 à 73 ans, présentant des toux rebelles consécutives à des pneumopathies variées (tuberculose , bronchite, néoplasmes primitifs ou secondaires) a montré, dans 40 % des cas, une activité moyenne et dans 60 % des cas, une activité bonne ou très bonne.

La tolérance générale du produit a été excellente et aucun effet secondaire n'a été noté sur:

- la secrétion,
- la ventilation (même des malades gravement atteints en insuffisance respiratoire),
- le transit intestinal (même chez un malade dont le néoplasme utérin et les antibiotiques avaient, à plusieurs reprises, donné lieu à un syndrôme occlusif),
- le système cardio-vasculaire.

Ces premiers résultats,bien que relatifs à un nombre réduit de malades, sont encourageants et permettent d'envisager la mise en oeuvre d'essais cliniques plus étendus. Ils confirment les conclusions que nous

... / ...

avons faites en fin de l'étude pharmacologique de cette molécule où l'action antitussive nette n'était accompagnée, chez l'animal de laboratoire, d'aucun effet secondaire susceptible de restreindre son utilisation.

... / ...

Activité recherchée	Technique utilisée	Voie	Espèce	699 P Doses mg/Kg	699 P Résultat	= PRODUIT REFERENCE Produit	Doses mg/Kg	Résultat
- TOXICITE	- Détermination DL 50	I.V.	Souris	100	- DL 50	Codéïne	60	- DL 50
		I.P.		360	"		150	"
		P.O.		850	"		600	"
- ANTITUSSIVE	- excit. électr. nerf laryngé	I.V.	Chat anesth.	4	- DE 50 à 15'	"	2	- DE 50
	- excit. mécan. trachée	"	Cob. anes.	4,5	- DE 50 à 15'	"		
	" " "	"	" décébr.	7,5	- protection 40à60%	"	20	- protec. 50 à 100 %
	" " "	P.O.	Chien évei.	50	- " 60 à100%	"	20	- " 100 % vomissements
- DEPRES.CENT.	- ant. convulsivants	I.P.	Souris	40	- 0			
	- Pot. hypnose	"	"	40	- lég. activité	"	15	- forte activité
	- test équilibration	"	"	40-80	- 0			
- ANALGESIQUE	- Plaque chauffante	"	"	20-40	- 0	"	15	- DE 50
	- P; benzo quinone	"	"	40-80	- 0	"	20	- DE 50
- DEPR. CENT.	- Enreg. resp. an. éveil.	I.V.	Lapin	2 - 5	- 0	"	2	- Act. dépres.
				10	- lég. dimin. rythme			
- CONTRACTION MUSC. LISSE	- Duod. isolé (acé.Cl_2Ba)		Rat	2à6.10-6	- activité spasmol.			
	- Tonus bronchique	I.V.	Cobaye	5-50	- 0	"	16	- broncho-constric.
	- Act. const. ant. sennos.	I.P.	Souris	80	- 0		40	- act. constipante
- SYSTEME NERV. AUTONOME	- Antag. tensionnel vis-à-vis Acétyl., Ad.,Xp	I.V.	Chien	2-5	- 0			
- SYSTEME CARDIO VASCULAIRE	- Tension artérielle	I.V.	"	2,5	- 0			
				5	- lég. hypot. fugace			
	- coeur isolé		Lapin	10^{-5}	- inotrope nég.	"		
	- oreillette isolée		"	10^{-4}	- 0			
- ANTI-INFLAMMATOIRE	- Oedème loc. carragénine	P.O.	Rat	40	- 0	Phényl		
				80	- ↘ 31 % activité	butazone	100	- 37 %

C O N C L U S I O N

Après un r appel bibliographique concernant la toux du point de vue anatomo-physiologique, nous avons défini le terme d'antitussif et examiné les principales techniques d'étude et les grandes structures chimiques de ces substances.

Nos travaux personnels ont comporté:

- la synthèse d'une série de corps guidée par les connaissances actuelles des relations entre la structure chimique et l'activité pharmacologique des antitussifs;

- l'étude pharmacologique antitussive de ces composés;
- la sélection du dérivé le plus actif.

Le 699 étant sélectionné, nous en avons étudié quantitativement l'activité antitussive comparée à celle de la codéïne prise comme substance de référence, les différentes propriétés permettant d'en expliquer le mécanisme d'action, puis les actions secondaires gênantes que l'on reproche en général aux substances utilisées à ce jour en thérapeutique.

Enfin, nous avons terminé l'étude approfondie de cette molécule par une détermination de sa toxicité subaigue et une recherche de phénomènes toxiques susceptibles d'apparaître en thérapeutique et en relation avec la présence du groupement nitrile de la molécule.

Nous pouvons conclure que le 699 possède une activité antitussive marquée et spécifique. Bien que légèrement moins actif que la codéïne, ce dérivé est dénué des actions secondaires gênantes qui limitent l'emploi de cet alcaloïde en thérapeutique et dont les trois plus importantes sont l'action analgésique pouvant conduire à des phénomènes d'accoutumance et de toxicomanie, l'action dépressive respiratoire et l'action contracturante sur la fibre lisse.

... / ...

TABLE des MATIERES

INTRODUCTION page

- PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I - Description et définition d'un accès de toux 3
II - Rappel physiologique de la toux 4
III - Pharmacologie des antitussifs et thérapeutique de la toux 10
- Définition d'un antitussif 10
- Intérêt de l'utilisation des substances antitussives . 10
- Lieu d'action des substances antitussives 11
- Techniques d'étude 16
- Classification chimique des antitussifs 28
- Relations structure chimique-propriétés antitussives. 46

- TRAVAUX PERSONNELS

I - Présentation de la structure chimique de la série 51
II - Synthèse chimique
III - Recherche de l'activité antitussive des molécules de la série 59
IV - Etude pharmacologique du composé le plus actif
- Toxicité aigue et activité antitussive 73
- Propriétés pouvant interférer avec l'activité antitussive .....
- anesthésie locale 87
- action sur la fibre lisse 87
- " dépressive centrale 88
- Effets secondaires
- action dépressive respiratoire 93
- " analgésique 97
- " contracturante sur la fibre lisse 100
- Effets latéraux
- système nerveux autonome 109
- " cardio-vasculaire 114
- action antiinflammatoire 115
- Conclusion: mécanisme d'action 117
- Etude toxicologique
- toxicité subaigue ?..... 120
- " liée au "CN" 127
- Etude clinique 137
- Tableau récapitulatif des propriétés pharmacologiques 139
- CONCLUSION 140

B I B L I O G R A P H I E

1 - ABELMANN W.H., GAENSLER E.A., 1954, Dis. Chest. 25, 532

2 - BEIN H.J., BUCHER K., 1957, Helv. Physiol. Acta 15 , 55

3 - BENSON , STEFKO P., RANDALL L., 1952, Fed. Proc. 11, 322

4 - BERG, 1960, Belgian Patent, 588-825

1960, French " , M. 160

5 - BERGMAN M., STOLZER H., 1956, Wien Med. Woschr. 106, 232

6 - BICKERMAN H.A., BARACH A.L., 1954, Amer. J. Red. Sci. 228, 156

7 - BOISSIER J.R., Produits Pharmac. 1956, 11, nº 12, P. 867
1957, 12, nº 1, p. 33.

8 - BOISSIER J.R., DUMONT C., MALEN C., Thérapie, 1956, 11, 745

9 - BOISSIER J.R., DUMONT C., MALEN C., Anesth. Analg., 1956, 13, 569

10 - BOISSIER J.R., PAGNY J., Thérapie 1960, 15, 93

10 bis - BOISSIER J.R., Thérapie, 1962, 17, 1225

11 - BANISTER J., FEGLER, GHEBB C., Quart. J. Exp. Physiol. 1949, 35, 233

12 - BORISON H.L., Am. J. Physiol. 154, 55 (1948)

13 - BOYD E.M., Canad. Med. Ass. J. 1960, 83, 1298

14 - BRAUNLICH H. Pharmazie, 1964, nº 10, 19, p. 650

15 - BUCHER K., Schweiz. Med. Weschr. 1956, 86, 94

16 - BUCHER K., Pharmacol. Review 1958, 10, 43

17 - BUCHER K., STEFKO P., RANDALL L.O., Fed. Proc. 1952, 11,322

18 - CARTER, C.H., MALEY M.C., Amer. J. Med. Sci. 1957, 233, 77

19 - CASS L.J., FREDERIK W.S. New Engl. J. Med. 1954, 249, 132

20 - CASS L.J., FREDERIK W.S., J. Leb. Clin. Med. 1956, 48, 879

21 - CHABRIER P., GIUDICELLI R., THUILLIER J., Ann. Pharm. Fr. 1950, 8, 261

22 - CHABRIER P., GIUDICELLI R., KRISTENSON C., A.P. C.R. Acad. Sc. Paris, 1950, 231, 289

23 - CHAKRAVARTY N.K., MATALLANA A., JENSEN R., BORISON H.L., J. Pharmacol. 1956, 117, 127

... / ...

3 bis - CHAPPEL C.I., STEGEN M.G., GRANT G.A., Canad.J. Biochem. 1958, 36, 475

4 - CHARLIER R., PROST M., BINON F., DELTOUR G., Arc. Int. Pharmacodyn. 1961, 134, 306

5 - CHEN J., Y., P., BILLER H.F., MONTGOMERY E.G., J. Pharmacol. 1960, 128, 384

6 - CHERMAT R., KORNOWSKI H., JONDET A., Ann. Pharm. Fr. 1966, 24, nº3, 181

7 - CHEYMOL G., GIUDICELLI R., Arch. Intern.Pharmacod. 1960, 125, 121

8 - CHRISTOFFEL,KOLBERG, Med. Klinik, 1953, 53, 1507

9 - CREMONCINI, Riv. Clin. Pediat. 1956, 58, 341

0 - DEPOORTER, Brux. med. 1954, 34, 422

1 - DOMENJOZ R., Arch. Exp. Pathol.Pharmakol. 1952, 215, 19

2 - DOYLE F.P., MEHTA M.D., Adv. Drugs Res. 1964, 1, 107

3 - DUBI A., Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 1959, 17, 166

4 - EDDY N.B., LEIMBACH D.J., J. Pharma. Exptl. Therap. 1953, 107, 385

5 - EICHLER O., SMIATEK A., Arch. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 1940, 194, 621

6 - EISLEB, SCHAUMANN, Dtsch., med. Wschr. 1939, 65, 967

7 - ENGELHORN R. , Arzneimittel. Forsch. 1960, 10, 735

8 - ERNST A.M., Arch. Int. Pharmacodyn. 1938, 53, 363

9 - FRIEBEL H., REICHLE C., Arch. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1955, 224, 384

0 - FRIEBEL H., REICHLE C., Arch. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1956, 229, 400

1 - GIULIANO, ROSSA, Minerva Méd. Torino 1955, 46, II, 1502

2 - GLOESNER E., Farmaco 1961, 16, 457

3 - GOLD C., Cornell. Conference on Therapy, 1952, 5, 1

4 - GOSSWALD R., Arzneimittel. Forsch. 1958, 8, 550

5 - GRAFE G., Medizinische, 1953, 43, 1741

6 - GRANIER, DOYEUX M., Arch. Int. Pharmacodyn. 1959, 121, 287

7 - GRASSI F., Minerva Med. Torino 1955, 46/II, 1922

8 - GRAVENSTEIN J.S., DEVLOO R., A., J. Applic. Physiol. 195 4, 7, 119

9 - GREEN A.F., WARD N.B., Brit. J. Pharmacol. 1955, 10, 418

0 - GREGOIRE F., THIBAUDEAU Y., GOMEAU M.,Canad. Med. Ass. J. 1958, 79, 180

1 - GRIGNON J.L., AUBERTIN D., Sem. Hop. Paris 1953, 29, 2999

.../...

52 - GLOESNER E., Farmaco 1961, 16, 457

53 - GULDEN, Ther. d. Gegenw. 1960, 99, 133

54 - GUSEVA, Farmakol. i. Toksikol. 1956, 19, (5) 17

55 - HAAS H., Arch. Exptl. Pathol. u. Pharmakol. 1955, 225, 442

56 - HALSRLITER, E., Arzneimittel Forsch. 1959, 99, 769

57 - HEFFRON C.E., J. New. Drugs 1961, 1, 217

58 - HENGEN O., KASPAREK H., Arzneimittel Forsch. 1958, 8, 620

59 - HERZOG H., Schweiz. med. Wschr. 1956, 86, 96

60 - HEYTLER P.G., PRICHARD W.W., Biochem. Biophysic. Res. Commun. 1962, 7, 272

61 - HILLIS B.R., Lancet, 1952, 1, 1230

62 - HUET H., Arch. Inst. Farmacol. Exp. Madrid, 1958, 10, 34

63 - ISBELL H., FRASER H.F., J. Pharmacol. 1953, 109, 417

64 - KÄRBER G., Arch. Exptl. Pathol. Pharmakol. 1931, 162, 480

65 - KASE Y., Jap. J. Pharmacol. 1952, 2, 7

66 - KASE Y., Jap. J. Pharmacol. 1955, 4, 130

67 - KASE Y., YUIZONO T., Chem. Pharm. Bull. Tokyo, 1959, 7, 378

68 - KASE Y., KAWASAKI A., Jap. J. Pharmacol. 1966, 16, 342

69 - KRAUSHAAR V., A., E., ROLAND W., Arzneimittel. Forsch. 1964, 14, 986

70 - KELENTEY B., STENSKY E., Arch. Exp. Path. Pharmakol., 1958, 233, 550

71 - KERR A., DERBES, V.J., Ann. Intern. Med. 1953, 39, 1240

72 - KIMURA R., YABUCHI T., TAMURA Y. Pharm. Bull. Tokyo 1958, 6, 159

73 - KLEIN B., Antibiot. Med. 1958, 5, 462

74 - KOHLI R.P., GUPTA G.P., BHARGAVA K.P., Indian J. Med. Res. 1960, 48,193

75 - KONZETT H., RÖSSLER P., Arch. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 1940, 195, 71

76 - KONZETT H., RÖTHLIN E., Experientia 1954, 10, 472

77 - KONZETT H., Wien. Klin. Ther. Weschr. 1955, 67, 306

78 - KRAUSE D., Arzneimittel. Forschung. 1958, 8, 553

79 - KRÖPFLI P., Helv. Physiol. Acta 1950, 8, 33

... / ...

50 - KUMMER, Praxis, 1955, 44, 132

51 - LA BARRE J., PLISNIER H., Arch. Intern.Pharmacodyn. 1959, 119, 205

52 - LARSELL O., BURGET G.E., Amer. J. Physiol. 1924, 70, 311

53 - LE DOUAREC J.C., REGNIER G., CANEVARI R., Arzneimittel.Forsch.1965,15,1330

54 - LE MEIGNAN M., STREICHENBERGER G., LECHAT P., Therapie, 1966, 21, 361

55 - LEVIS S., PREAT S., MOYERSOONS F., Arch. Int. Pharmacodyn. 1955, 103, 200

56 - LIBAL R., Med. Welt. 1960, 383

57 - LINDNER E., STEIN L., Arzneimittel. Forsch. 1959, 9, 94

58 - MALEN C., BOISSIER J., Bull. Soc. Chim. Fr. 1956, 923 et 926

59 - MARCATO K., MARCUCCI L., Arch. Ital. Otol. 1957, 68, 404

60 - MARTIN H., HÄFLIGER F., U.S. Patent : 3069 318, 1946

61 - MATALANA A., BORISON H.L., Fed. Proceedings 1955, 14, 1186

62 - MAY A.J., WIDDICOMBE J.G., Brit. J. Pharmacol. 1954, 9, 335

63 - MAYER, MAGNE, PLANTEFOL, C.R. Acad. Sci. Paris, 1920, 170, 1347

64 - MORREN H.G., Belg. Pat. 520 998, Chem. Abstracts 1957, 51, 7443

65 - MORREN H.G., Belg. Pat. 556 239, Chem. Abst. 1959, 53, 22027
" " 570 393 " " " " 189666
" " 853 783 " " 1961, 55, 13455
" " 2981 735 " " " 56, 22346

66 - MULLINOS M.G., Toxicol. Appl. Pharmacol. 1960, 2, 635

67 - NAEGELI, Praxis, 1956, 45, 56

68 - NAJER H., GIUDECELLI R., Bull. Soc. Chim. Fr. 1959, 1895

69 - PARISH F.A., Med. Times N.Y. 1959, 87, 1488

70 - PELMONT B., BACHTOLD H., Schweiz. Med. Wechr. 1954, 84, 1368

71 - PESSON M., JOANNIC M., C.R. Acad. Sci. Paris, 1964, 259, 4716

72 - PESSON M., Coll. C.R. Acad. Sci. Paris - 1965, 260, 221

73 - PESSON M. Bull. Soc. Chim. 1965, 2262

74 - PFEIFFER, Science, 1943, 107, 94

75 - PLISNIER H., Therapie, 1954, 9, 737

76 - POHLAND A., SULLIVAN H.R., J. Amer. Chem. Soc. 1953, 75, 4458

77 - RALPH W., Amer. J. Med. Sci. 1954, 227, 297

.../...

108 - RASCH, Nor. Med. 1957, 57, 629

109 - REICHLE C., FRIEBEL H., Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 1955, 226, 558

110 - RIEBEL A., Arzneimittel Forsch. 1960, 10, 794

111 - RIENZO S., Fort. Röntgenstr. 1953, 78, 1

112 - ROSS B.B., GRAMIAK R., RAHW H., J. Appl. Physiol. 1955, 8, 264

113 - ROSIERE C.E., WINDER C.V., WAX J., J. Pharmacol. 1956, 116, 296

114 - ROTH F., Sem. Hop. Paris, 1956, 32, 325

115 - RYDE, Svenska Läkartidn. 1960, 57, 797

116 - SABURO H., Jap. J. Pharma. 1959, 9

117 - SALERNO L., Arch. Ital. Laring. 1955, 63, 359

118 - SALLE J., BRUNAUD M., Arch. Int. Pharmacodyn. 1960, 126, 120

119 - SAVINI E.C., MOULIN M.A., HERKOV J.F., Therapie 1968, 23, 491

120 - SCHAUMANN W., Arch. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 1940, 196, 109

121 - SCHNIDER O., GUSSNEK A., U.S. Patent, 1954, 2 676 177

122 - SCHROEDER W., Arch. Exp. Mathol. u. Pharmakol. 1961, 212, 433

123 - SCHRÖER, H.N.O. Berl. 1960, 8, 183

124 - VON SEEMAN, Chem. Abst. 1957, 51, 10591

125 - SEGAL M.S., GOLDSTEIN M.M., Dis. Cheist. 1957, 32, 305

126 -SELL R., LINDNER E., JAHN H., Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 1958,234,164

127 - SEVELIUS H., Clin. Pharm. Therap. 1967, 8, nº 3, p. 381

128 - SHARPEY, SCHAFER E.P., Brit. Med. J. 1953, 2, 880

129 - SHARPEY-SCHAFER E.P., J. Physiol. 1953, 122, 351

130 - SHEMANO I., Arch. Int. Pharmacodyn. 1967, 165, nº 2, 410

131 - SIEGMUND E.A., CADMUS A., J. Pharmacol. Exptl. Therap. 1957, 119, 453

132 - SILVESTRINI B., MAFFI G., Farmaco, Ed. Sci. 1959, 14, 440

133 - SILVESTRINI B., POZZATTI C., Arch. Int. Pharmacodyn. 1960, 129, 249

134 - SILVESTRINI B., POZZATTI C., Arzneimittel. Forsch. 1963, 9, 798

135 - SIMON S.W., Chio. St. Med. J. 1957, 53, 1426

136 - SKURSKY, Wien med. Wschr. 1959, 109, 507

137 - SHELL, ARMITAGE, Lancet 1957, 1, 860

138 - STEFKO P., BENSON, WMJ, Pharma; Exp. Therap. 1951, 103, 632

139 - STEFKO P., BENSON, WMJ., Pharma. Exp. Therap. 1953, 108, 217

... / ...

140 - STEFKO P., BENSON WMJ., Pharma. Exp. Therap. 1953, 109, 189

141 - STEFKO P., DENZEL, HICHEY I., J. Pharm. Sci. 1961, 50, 216

142 - TAGAKI K., J. Pharm. Soc. Japan, 1960, 80, 1056

143 - TARDOS L., Arzneimittel. Forsch. 1960, 5, 617

144 - TEDESCHI R.E., TEDESCHI D.H., J. Pharm. Exp. Therap. 1949, 126, 338

145 - TIFFENEAU R., Therapie 1956, 11, nº 2, 265

146 - TONER J.J., MACKO E., J. Pharmacol. 1952, 106, 246

147 - TREDELENBURG U., Acta Physiol. Scand. 1950, 21, 174

148 - VACHER J., RISPAT C., DUCHENE-MARULLAZ P., Med. Pharmacol. Exp. 1966, 15, 241

149 - VAN DONGEN, Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. 1956, 4, 500

150 - VLEESCHOUVER (G.P. de), Arch. Int. Pharmacodyn. 1954, 97, 34

151 - WIDDICOMBE J.G., J. Physiol. 1954, 123, 71

152 - " " " " " " 105

153 - WINTER C.A., FLATAKER L., Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 1952, 81, 463

154 - " " J. Pharmacol. 1954, 112, 99

155 - WINTER C.A., ROSIERE C.E., J. Pharmacol. 1955, 113, 55

156 - WINTER C.V., WELFORD M., WAX J., Journal of Pharmacol. Exp. Therap. 1966, 154, nº 1, 161

157 - WOOLFE G., Mac DONALD A.D., J. Pharm. Exp. Therap. 1944, 80, 3000

158 - ZAMBONI P., MARCATO M., Arch. Ital. Sci. Farmacol. 1957, 7, 310.